

506, 820

(12) NACH DEM VERTRAG ÜBER DIE INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES PATENTWESENS (PCT) VERÖFFENTLICHTE INTERNATIONALE ANMELDUNG

(19) Weltorganisation für geistiges Eigentum
Internationales Büro

PCT/PTO 02 SEP 2004

(10) Internationale Veröffentlichungsnummer
WO 03/074512 A1

PCT

(51) Internationale Patentklassifikation⁷: C07D 401/12,
403/12, 217/12, A61P 35/04GOTTSCHLING, Dirk [DE/DE]; Wertachstrasse 31 d,
89250 Senden (DE).

(21) Internationales Aktenzeichen: PCT/EP03/01248

(74) Gemeinsamer Vertreter: MERCK PATENT GMBH;
Frankfurter Strasse 250, 64293 Darmstadt (DE).(22) Internationales Anmeldedatum:
7. Februar 2003 (07.02.2003)(81) Bestimmungsstaaten (national): AE, AG, AL, AM, AT,
AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR,
CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EC, EE, ES, FI, GB, GD, GE,
GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR,
KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK,
MN, MW, MX, MZ, NO, NZ, OM, PH, PL, PT, RO, RU,
SD, SE, SG, SK, SL, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG,
US, UZ, VN, YU, ZA, ZM, ZW.

(25) Einreichungssprache: Deutsch

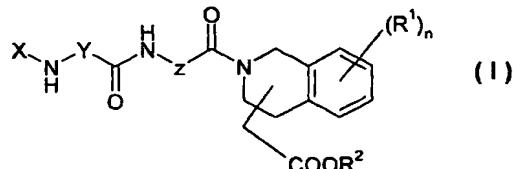
(84) Bestimmungsstaaten (regional): ARIPO-Patent (GH,
GM, KE, LS, MW, MZ, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW),
eurasisches Patent (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ,
TM), europäisches Patent (AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE,
DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HU, IE, IT, LU, MC, NL,
PT, SE, SI, SK, TR), OAPI-Patent (BF, BJ, CF, CG, CI,
CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

(26) Veröffentlichungssprache: Deutsch

Veröffentlicht:
— mit internationalem Recherchenbericht(30) Angaben zur Priorität:
102 09 692.9 6. März 2002 (06.03.2002) DEZur Erklärung der Zweibuchstaben-Codes und der anderen
Abkürzungen wird auf die Erklärungen ("Guidance Notes on
Codes and Abbreviations") am Anfang jeder regulären Ausgabe
der PCT-Gazette verwiesen.

(54) Title: ISOQUINOLINE DERIVATIVES

(54) Bezeichnung: ISOCHINOLINDERIVATE



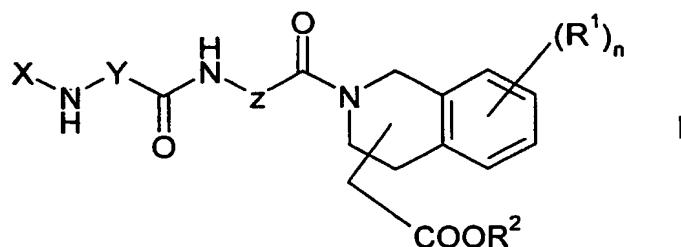
WO 03/074512 A1

(57) Abstract: Disclosed are isoquinoline derivatives of general formula (I), in which X, Y, Z, R¹, R², and n have the meanings indicated in claim (1), and the physiologically acceptable salts or solvates thereof, which are integrin inhibitors and can be used for the prevention of thromboses, heart attack, coronary heart diseases, arteriosclerosis, inflammations, tumors, osteoporosis, infections, and post-angioplasty restenosis or in pathological processes that are entertained or propagated by angiogenesis.(57) Zusammenfassung: Isochinolinderivate der allgemeinen Formel (I), worin X, Y, Z, R¹, R² und n, die in Patentanspruch (1) angegebenen Bedeutungen haben, sowie deren physiologisch unbedenklichen Salze oder Solvate sind Integrinhibitoren und können zur Bekämpfung von Thrombosen, Herzinfarkt, koronaren Herzerkrankungen, Arteriosklerose, Entzündungen, Tumoren, Osteoporose, Infektionen und Restenose nach Angioplastie oder bei pathologischen Vorgängen, die durch Angiogenese unterhalten oder propagiert werden, eingesetzt werden.

Isochinolinderivate

Die Erfindung betrifft Verbindungen der allgemeinen Formel I

5



10

worin

X H, -C(=NR³)-NHR⁴ oder Het,

15

Z NH oder CH₂,

20

R¹, R⁵ jeweils unabhängig voneinander H, A, OH, OA, Arylalkyl, Hal,
-CO-A, CN, NO₂, NHR³, COOA, COOH, SO₂A, CF₃ oder OCF₃,

R² jeweils unabhängig voneinander H oder A,

R³, R⁴ jeweils unabhängig voneinander H, A, -CO-A, NO₂ oder CN,

25

A Alkyl mit 1-6 C-Atomen,

m 0, 1, 2, 3, 4, 5 oder 6,

30

n, p unabhängig voneinander 1, 2 oder 3
bedeuten,

sowie ihre physiologisch unbedenklichen Derivate, insbesondere deren
Salze und Solvate.

35

Der Erfindung lag die Aufgabe zugrunde, neue Verbindungen mit wertvollen Eigenschaften aufzufinden, insbesondere solche, die zur Herstellung von Arzneimitteln verwendet werden.

5 Es wurde gefunden, daß die Verbindungen der Formel I und ihre Salze bei guter Verträglichkeit sehr wertvolle pharmakologische Eigenschaften besitzen. Vor allem wirken sie als Integrin-Inhibitoren, wobei sie insbesondere die Wechselwirkungen der αv -, $\beta 3$ -, $\beta 5$ - oder $\beta 6$ -Integrin-Rezeptoren mit Liganden hemmen, wie z.B. die Bindung von Fibrinogen an 10 den Integrinrezeptor.

15 Integrine gehören zu der Familie von heterodimeren Klasse I – Transmembran-Rezeptoren, die in zahlreichen Zell-Matrix- bzw. Zell-Zell-Adhäsionsvorgängen eine wichtige Rolle spielen (Tuckwell et al., 1996, Symp. Soc. Exp. Biol. 47). Sie können grob in drei Klassen eingeteilt werden: die $\beta 1$ -Integrine, die Rezeptoren für die extrazelluläre Matrix darstellen, die $\beta 2$ -Integrine, welche auf Leukozyten aktivierbar sind und während inflammatorischen Prozessen "getriggert" werden, sowie die αv – 20 Integrine, die die Zellantwort bei Wundheilungs- und anderen pathologischen Prozessen beeinflussen (Marshall and Hart, 1996, Semin. Cancer Biol. 7, 191). Die relative Affinität und Spezifität für eine Ligandenbindung wird durch Kombination der verschiedenen α - und β -Untereinheiten bestimmt.

25 Besondere Wirksamkeit zeigen die erfindungsgemäßen Verbindungen im Fall der Integrine $\alpha v\beta 1$, $\alpha v\beta 3$, $\alpha v\beta 5$, $\alpha IIb\beta 3$ sowie $\alpha v\beta 6$ und $\alpha v\beta 8$, bevorzugt von $\alpha v\beta 3$, $\alpha v\beta 5$ und $\alpha v\beta 6$, sowie $\alpha IIb\beta 3$.

30 $\alpha v\beta 6$ ist ein relativ seltenes Integrin (Busk et al., J. Biol. Chem. 1992, 267(9), 5790), das bei Reparaturvorgängen in Epithelgewebe vermehrt gebildet wird und die natürlichen Matrixmoleküle Fibronectin und Tenascin bevorzugt bindet (Wang et al., Am. J. Respir. Cell Mol. Biol. 1996, 15(5), 664). Die physiologischen und pathologischen Funktionen von $\alpha v\beta 6$ sind noch nicht genau bekannt, es wird jedoch vermutet, daß dieses Integrin bei 35 physiologischen Vorgängen und Erkrankungen (z.B. Entzündungen, Wundheilung, Tumoren), bei denen epitheliale Zellen beteiligt sind, eine

wichtige Rolle spielt. So wird $\alpha v\beta 6$ auf Keratinozyten in Wunden exprimiert (Haapasalmi et al., J. Invest. Dermatol. 1996, 106(1), 42), woraus anzunehmen ist, daß neben Wundheilungsprozessen und Entzündungen auch andere pathologische Ereignisse der Haut, wie z. B. Psoriasis,

- 5 bullöser Pemphigus, Dermatitis und Erytheme sowie auch zystische Fibrose, Endometriose, Leberzirrhose oder Periodontitis durch Agonisten oder Antagonisten des besagten Integrins beeinflußbar sind. Ferner spielt $\alpha v\beta 6$ im Atemwegsepithel eine Rolle (Weinacker et al., Am. J. Respir. Cell Mol. Biol. 1995, 12(5), 547), so daß entsprechende Agonisten /
10 Antagonisten dieses Integrins bei Atemwegserkrankungen, wie Bronchitis, Asthma, Lungenfibrosen und Atemwegstumoren erfolgreich eingesetzt werden könnten. Letztlich ist bekannt, daß $\alpha v\beta 6$ auch im Darmepithel eine Rolle spielt, so daß entsprechende Integrin-Agonisten/-Antagonisten bei
15 der Behandlung von Entzündungen, Tumoren und Wunden des Magen/Darmtraktes Verwendung finden könnten.

Es wurde gefunden, daß die erfindungsgemäßen Verbindungen der Formel I und ihre Salze als lösliche Moleküle Wirkung auf Zellen ausüben, die den genannten Rezeptor tragen, oder wenn sie an Oberflächen gebunden sind, künstliche Liganden für die $\alpha v\beta 6$ – vermittelte Zellhaftung darstellen. Vor allem wirken sie als $\alpha v\beta 6$ Integrin-Inhibitoren, wobei sie insbesondere die Wechselwirkungen des Rezeptors mit anderen Liganden hemmen, wie z.B. die Bindung von Fibronectin.

- 25 Die erfindungsgemäßen Verbindungen sind insbesondere potente Inhibitoren des Vitronectinrezeptors $\alpha v\beta 3$ und/oder potente Inhibitoren des $\alpha v\beta 6$ -Rezeptors.

- 30 Das $\alpha v\beta 3$ Integrin wird auf einer Reihe von Zellen, z.B. Endothelzellen, Zellen der glatten Gefäßmuskulatur beispielsweise der Aorta, Zellen zum Abbau von Knochenmatrix (Osteoclasten) oder Tumorzellen, exprimiert.

- 35 Die Wirkung der erfindungsgemäßen Verbindungen kann z.B. nach der Methode nachgewiesen werden, die von J.W. Smith et al. in J. Biol. Chem. 1990, 265, 12267-12271 beschrieben wird.

B. Felding-Habermann und D.A. Cheresh beschreiben in Curr. Opin. Cell. Biol. 1993, 5, 864 die Bedeutungen der Integrine als Adhäsionsrezeptoren für die unterschiedlichsten Phänomene und Krankheitsbilder, speziell in Bezug auf den Vitronectinrezeptor $\alpha\beta 3$.

5

Die Abhängigkeit der Entstehung von Angiogenese von der Wechselwirkung zwischen vaskulären Integrinen und extrazellulären Matrixproteinen ist von P.C. Brooks, R.A. Clark und D.A. Cheresh in Science 1994, 264, 569-571 beschrieben.

10

Die Möglichkeit der Inhibierung dieser Wechselwirkung und damit zum Einleiten von Apoptose (programmierter Zelltod) angiogener vaskulärer Zellen durch ein cyclisches Peptid ist von P.C. Brooks, A.M. Montgomery, M. Rosenfeld, R.A. Reisfeld, T. Hu, G. Klier und D.A. Cheresh in Cell 1994, 79, 1157-1164 beschrieben. Es wurden darin z.B. $\alpha\beta 3$ -Antagonisten oder Antikörper gegen $\alpha\beta 3$ beschrieben, die eine Schrumpfung von Tumoren durch Einleiten von Apoptose bewirken.

15

Der experimentelle Nachweis, daß auch die erfindungsgemäßen Verbindungen die Anheftung von lebenden Zellen auf den entsprechenden Matrixproteinen verhindern und dementsprechend auch die Anheftung von Tumorzellen an Matrixproteine verhindern, kann in einem Zelladhäsionstest erbracht werden, analog der Methode von F. Mitjans et al., J. Cell Science 1995, 108, 2825-2838.

20

P.C. Brooks et al. beschreiben in J. Clin. Invest. 1995, 96, 1815-1822 $\alpha\beta 3$ -Antagonisten zur Krebsbekämpfung und zur Behandlung tumor-induzierter angiogener Krankheiten.

25

Die Verbindungen können die Bindung von Metallproteininasen an Integrine hemmen und so verhindern, daß die Zellen die enzymatische Aktivität der Proteinase nutzen können. Ein Beispiel ist in der Hemmbarkeit der Bindung von MMP-2- (Matrix-Metalloc-Proteinase-2-) an den Vitronectin-Rezeptor $\alpha\beta 3$ durch ein Cyclo-RGD-Peptid zu finden, wie in P.C. Brooks et al., Cell 1996, 85, 683-693 beschrieben.

30

35

Die erfindungsgemäßen Verbindungen der Formel I können daher als Arzneimittelwirkstoffe insbesondere zur Behandlung von Tumorerkrankungen, Osteoporosen, osteolytischen Erkrankungen sowie zur Unterdrückung der Angiogenese eingesetzt werden.

5

Verbindungen der Formel I, die die Wechselwirkung von Integrinrezeptoren und Liganden, wie z.B. von Fibrinogen an den Fibrinogenrezeptor (Glycoprotein IIb/IIIa) blockieren, verhindern als GPIIb/IIIa-Antagonisten die Ausbreitung von Tumorzellen durch Metastase. Dies wird durch folgende

10

Beobachtungen belegt:

Die Verbreitung von Tumorzellen von einem lokalen Tumor in das vaskuläre System erfolgt durch die Bildung von Mikroaggregaten (Mikrothromben) durch die Wechselwirkung der Tumorzellen mit Blutplättchen. Die Tumorzellen sind durch den Schutz im Mikroaggregat

15

abgeschirmt und werden von den Zellen des Immunsystems nicht erkannt. Die Mikroaggregate können sich an Gefäßwandungen festsetzen, wodurch ein weiteres Eindringen von Tumorzellen in das Gewebe erleichtert wird.

Da die Bildung der Mikrothromben durch Fibrinogenbindung an die Fibrinogenrezeptoren auf aktivierte Blutplättchen vermittelt wird, können die GPIIb/IIIa-Antagonisten als wirksame Metastase-Hemmer angesehen werden.

20

Verbindungen der Formel I hemmen neben der Bindung von Fibrinogen, Fibronectin und des von-Willebrand-Faktors an den Fibrinogenrezeptor der Blutplättchen auch die Bindung weiterer adhäsiver Proteine, wie Vitronectin, Kollagen und Laminin, an die entsprechenden Rezeptoren auf der Oberfläche verschiedener Zelltypen. Sie verhindern insbesondere die Entstehung von Blutplättchenthromben und können daher zur Behandlung von Thrombosen, Apoplexie, Herzinfarkt, Entzündungen und Arteriosklerose eingesetzt werden.

30

Die thrombozytenaggregationshemmende Wirkung lässt sich in vitro nach der Methode von Born (Nature 1962, 4832, 927-929) nachweisen.

35

Ein Maß für die Aufnahme eines Arzneimittelwirkstoffs in einen Organismus ist seine Bioverfügbarkeit.

Wird der Arzneimittelwirkstoff in Form einer Injektionslösung dem Organismus intravenös zugefügt, so liegt seine absolute Bioverfügbarkeit, d.h. der Anteil des Pharmakons, der unverändert im systemischen Blut, d.h. in den großen Kreislauf gelangt, bei 100%.

- 5 Bei oraler Vergabe eines therapeutischen Wirkstoffs liegt der Wirkstoff in der Regel als Feststoff in der Formulierung vor und muß sich daher zuerst auflösen, damit er die Eintrittsbarrieren, beispielsweise den Gastrointestinaltrakt, die Mundschleimhaut, nasale Membranen oder die Haut, insbesondere das Stratum corneum, überwinden kann bzw. vom
10 Körper resorbiert werden kann. Daten zur Pharmakokinetik, d.h. zur Bioverfügbarkeit können analog zu der Methode von J. Shaffer et al, J. Pharm. Sciences, 1999, 88, 313-318 erhalten werden.

Gegenstand der Erfindung sind Verbindungen der Formel I nach Anspruch
15 1 und ihre physiologisch unbedenklichen Salze und/oder Solvate als therapeutische Wirkstoffe.

Gegenstand der Erfindung sind demgemäß Verbindungen der Formel I nach Anspruch 1 und ihre physiologisch unbedenklichen Salze und/oder Solvate als Integrinhibitoren.
20

Gegenstand der Erfindung sind Verbindungen der Formel I nach Anspruch 1 und ihre physiologisch unbedenklichen Salze und/oder Solvate zur Anwendung bei der Bekämpfung von Krankheiten.

25 Die Verbindungen der Formel I können als Arzneimittelwirkstoffe in der Human- und Veterinärmedizin eingesetzt werden, insbesondere zur Prophylaxe und/oder Therapie von Erkrankungen des Kreislaufs, Thrombose, Herzinfarkt, Arteriosklerose, Apoplexie, Angina pectoris,
30 Tumorerkrankungen, wie Tumorwachstum oder Tumormetastasierung, osteolytischen Krankheiten wie Osteoporose, pathologisch angiogenen Krankheiten wie z.B. Entzündungen, ophthalmologischen Krankheiten, diabetischer Retinopathie, makularer Degeneration, Myopia, okularer Histoplasmose, rheumatischer Arthritis, Osteoarthritis, ruberotischem Glaukom, ulcerativer Colitis, Morbus Crohn, Atherosklerose, Psoriasis,
35 bullöser Pemphigus, Dermatitis, Erytheme, Lungenfibrose, zystische

Fibrose, Endometriose, Leberzirrhose, Periodontitis, Restenose nach Angioplastie, Multiplesklerose, viraler Infektion, bakterieller Infektion, Pilzinfektion, bei akutem Nierenversagen und bei der Wundheilung zur Unterstützung des Heilungsprozesses.

5

Die Verbindungen der Formel I können als antimikrobiell wirkende Substanzen bei Operationen eingesetzt werden, wo Biomaterialien, Implantate, Katheter oder Herzschrittmacher verwendet werden.

Dabei wirken sie antiseptisch. Die Wirksamkeit der antimikrobiellen

10

Aktivität kann durch das von P. Valentin-Weigund et al. in Infection and Immunity, 1988, 2851-2855 beschriebene Verfahren nachgewiesen werden.

Da die Verbindungen der Formel I Inhibitoren der Fibrinogenbindung und

15

damit Liganden der Fibrinogenrezeptoren auf Blutplättchen darstellen, können sie als Diagnostika zur Detektion und Lokalisierung von Thromben im vaskulären System in vivo verwendet werden, sofern sie beispielsweise durch einen radioaktiven oder UV-detektierbaren Rest substituiert werden.

20

Die Verbindungen der Formel I können als Inhibitoren der Fibrinogenbindung auch als wirksame Hilfsmittel zum Studium des Metabolismus von Blutplättchen in unterschiedlichen Aktivierungsstadien oder von intrazellulären Signalmechanismen des Fibrinogenrezeptors verwendet werden. Die detektierbare Einheit eines einzubauenden "Labels", z.B. eine Isotopenmarkierung durch ^3H , erlaubt es, nach Bindung an den Rezeptor, die genannten Mechanismen zu untersuchen.

Es bedeuten nachstehend:

30

Ac Acetyl

Aza-Gly $\text{H}_2\text{N}-\text{NH}-\text{COOH}$

BOC tert.-Butoxycarbonyl

CBZ oder Z Benzyloxycarbonyl

DCCI Dicyclohexylcarbodiimid

35

DCM Dichlormethan

DIPEA Diisopropylethylamin

	DMF	Dimethylformamid
	DMSO	Dimethylsulfoxid
	EDCI	N-Ethyl-N,N'-(dimethylaminopropyl)-carbodiimid
	Et	Ethyl
5	Fmoc	9-Fluorenylmethoxycarbonyl
	Gly	Glycin
	Gua	Guanidin
	HATU	O-(7-Azabenzotriazol-1-yl)-N,N,N',N'-tetramethyluronium-hexafluorophosphat
10	HOBt	1-Hydroxybenzotriazol
	Me	Methyl
	MBHA	4-Methyl-benzhydrylamin
	Mtr	4-Methoxy-2,3,6-trimethylphenyl-sulfonyl
	NMP	N-Methylpyrrolidon
15	NMR	kernmagnetische Resonanz
	HONSu	N-Hydroxysuccinimid
	OBzl	Benzylester
	OtBu	tert.-Butylester
	Oct	Octanoyl
20	OMe	Methylester
	OEt	Ethylester
	Pbf	2,2,4,6,7-Pentamethyldihydrobenzofuran-5-sulfonyl
	β-Phe	β-Phenylalanin
	POA	Phenoxyacetyl
25	Pyr	Pyridin
	R_f-Wert	Retentionsfaktor
	RP	<i>Reversed Phase</i>
	RT	Retentionszeit
	Sal	Salicyloyl
30	TBTU	O-(1H-Benzotriazol-1-yl)-N,N,N',N'-tetramethyluroniumtetrafluorborat
	TFA	Trifluoressigsäure
	Thiqu	1,2,3,4-Tetrahydroisoquinolin
	Trt	Trityl (Triphenylmethyl).

Die Verbindungen der Formel I besitzen mindestens ein chirales Zentrum und können daher in mehreren stereoisomeren Formen auftreten. Alle diese Formen (z. B. D- und L-Formen) und deren Gemische (z. B. die DL-Formen) sind in der Formel I eingeschlossen.

5

In die erfindungsgemäßen Verbindungen nach Anspruch 1 sind auch sogenannte Prodrug-Derivate eingeschlossen, d.h. mit z.B. Alkyl- oder Acylgruppen, Zuckern oder Oligopeptiden abgewandelte Verbindungen der Formel I, die im Organismus rasch zu den wirksamen erfindungsgemäßen Verbindungen gespalten werden.

10

Hierzu gehören auch bioabbaubare Polymerderivate der erfindungsgemäßen Verbindungen, wie dies z. B. in Int. J. Pharm. 1995, 115, 61-67 beschrieben ist.

15

In die erfindungsgemäßen Verbindungen nach Anspruch 1 sind auch Derivate der Verbindungen der Formel I eingeschlossen, deren Carboxylgruppe in einen pharmazeutisch akzeptablen metabolisch labilen Ester oder ein Amid davon umgewandelt ist.

20

Ferner können freie Aminogruppen oder freie Hydroxygruppen als Substituenten von Verbindungen der Formel I mit entsprechenden Schutzgruppen versehen sein.

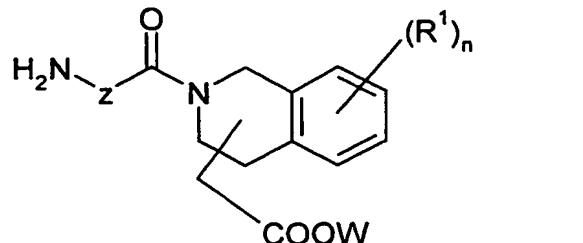
25

Unter Solvaten der Verbindungen der Formel I werden Anlagerungen von inerten Lösungsmittelmolekülen an die Verbindungen der Formel I verstanden, die sich aufgrund ihrer gegenseitigen Anziehungskraft ausbilden. Solvate sind z.B. Mono- oder Dihydrate oder Additionsverbindungen mit Alkoholen, wie z.B. mit Methanol oder Ethanol.

30

Gegenstand der Erfindung ist ferner ein Verfahren zur Herstellung von Verbindungen der Formel I nach Anspruch 1 sowie ihrer Salze, dadurch gekennzeichnet, daß man
a) eine Verbindung der Formel II,

- 10 -

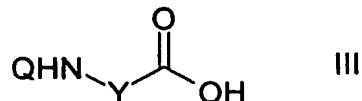


5

worin Z, R¹ und n die oben angegebene Bedeutung aufweisen und W eine übliche Schutzgruppe oder eine in der Peptidchemie verwendete feste Phase bedeutet,

10

mit einer Verbindung der Formel III



15

worin Y die oben angegebene Bedeutungen aufweist und Q eine geeignete Schutzgruppe oder Het bedeutet, in Gegenwart eines Kondensationsmittels wie z.B. HATU umsetzt,

20

und anschließend die Schutzgruppen und/oder die feste Phase entfernt,

und das erhaltene Produkt gegebenenfalls, sofern Q als Schutzgruppe abgespalten wird, mit einer geeigneten Guanylverbindung, wie z.B. N, N'-bis-BOC-1-Guanylpyrazol umgesetzt und gegebenenfalls die verbliebenen Schutzgruppen und/oder die festen Phase abgespaltet oder

b) eine Verbindung der Formel I aus einem ihrer funktionellen Derivate durch Behandeln mit einem solvolysierenden oder hydrogenolysierenden Mittel in Freiheit setzt,

und/oder daß man eine basische oder saure Verbindung der Formel I durch Behandeln mit einer Säure oder Base in eines ihrer Salze überführt.

Für die gesamte Erfindung gilt, daß sämtliche Reste, die mehrfach auftreten, wie z.B. R¹ gleich oder verschieden sein können, d.h unabhängig voneinander sind.

- 5 In den vorstehenden Formeln bedeutet A Alkyl, ist linear oder verzweigt, und hat 1 bis 6, vorzugsweise 1, 2, 3, 4, 5 oder 6 C-Atome. A bedeutet vorzugsweise Methyl, weiterhin Ethyl, Isopropyl, n-Propyl, n-Butyl, Isobutyl, sek.-Butyl oder tert.-Butyl, ferner auch n-Pentyl, 1-, 2- oder 3-Methylbutyl, 1,1-, 1,2- oder 2,2-Dimethylpropyl, 1-Ethylpropyl, Hexyl, 1-, 2-, 3- oder 4-
10 Methylpentyl, 1,1-, 1,2-, 1,3-, 2,2-, 2,3- oder 3,3-Dimethylbutyl, 1- oder 2-Ethylbutyl, 1-Ethyl-1-methylpropyl, 1-Ethyl-2-methylpropyl, 1,1,2- oder 1,2,2-Trimethylpropyl.
Besonders bevorzugt für A ist Methyl.
- 15 Der Ausdruck „Schutzgruppe“ bedeutet vorzugsweise Acetyl, Propionyl, Butyryl, Phenylacetyl, Benzoyl, Toluyl, POA, Methoxycarbonyl, Ethoxycarbonyl, 2,2,2-Trichlorethoxycarbonyl, BOC, 2-Iodethoxycarbonyl, CBZ ("Carbobenzoxy"), 4-Methoxybenzyloxycarbonyl, Fmoc, Mtr oder Benzyl. Besonders bevorzugt Fmoc.
- 20 Arylalkyl bedeutet bevorzugt Benzyl, Phenylethyl, Phenylpropyl oder Naphthylmethyl, besonders bevorzugt Benzyl.
- 25 Hal bedeutet vorzugsweise F, Cl oder Br.
- Het bedeutet einen mono- oder bicyclischen aromatischen oder gesättigten Rest mit bis zu drei Heteroatomen, vorzugsweise einen gesättigten, teilweise oder vollständig ungesättigten mono- oder bicyclischen heterocyclischen Rest mit 5 bis 10 Ringgliedern, wobei 1 oder 2 N- und/oder 1 oder 2 S- oder O-Atome vorliegen können und der heterocyclische Rest ein- oder zweifach durch CN, Hal, OH, OA, CF₃, A, NO₂ oder OCF₃ substituiert sein kann.
- 35 Het ist vorzugsweise substituiertes oder unsubstituiertes 2- oder 3-Furyl, 2- oder 3-Thienyl, 1-, 2- oder 3-Pyrrolyl, 1-, 2-, 4- oder 5-Imidazolyl, 3-, 4-

oder 5-Pyrazolyl, 2-, 4- oder 5-Oxazolyl, 3-, 4- oder 5-Isoxazolyl, 2-, 4- oder 5-Thiazolyl, 3-, 4- oder 5-Iothiazolyl, 2-, 3- oder 4-Pyridyl, 2-, 4-, 5- oder 6-Pyrimidinyl, weiterhin bevorzugt 1,2,3-Triazol-1-, -4- oder -5-yl, 1,2,4-Triazol-1-, -4- oder -5-yl, 1- oder 5-Tetrazolyl, 1,2,3-Oxadiazol-4- oder -5-yl
5 1,2,4-Oxadiazol-3- oder -5-yl, 1,3,4-Thiadiazol-2- oder -5-yl, 1,2,4-Thiadiazol-3- oder -5-yl, 1,2,3-Thiadiazol-4- oder -5-yl, 2-, 3-, 4-, 5- oder 6-2H-Thiopyranyl, 2-, 3- oder 4-4H-Thiopyranyl, 3- oder 4-Pyridazinyl, Pyrazinyl, 2-, 3-, 4-, 5-, 6- oder 7-Benzofuryl, 2-, 3-, 4-, 5-, 6- oder 7-Benzothienyl, 1-, 2-, 3-, 4-, 5-, 6- oder 7-1H-Indolyl, 1-, 2-, 4- oder 5-Benzimidazolyl, 1-, 3-, 4-, 5-, 6- oder 7-Benzopyrazolyl, 2-, 4-, 5-, 6- oder 7-Benzoxazolyl, 3-, 4-, 5-, 6- oder 7-Benzisoxazolyl, 2-, 4-, 5-, 6- oder 7-Benzthiazolyl, 2-, 4-, 5-, 6- oder 7-Benzisothiazolyl, 4-, 5-, 6- oder 7-Benz-
10 2,1,3-oxadiazolyl, 1-, 2-, 3-, 4-, 5-, 6-, 7- oder 8-Chinolinyl, 1-, 3-, 4-, 5-, 6-, 7- oder 8-Isochinolinyl, 1-, 2-, 3-, 4- oder 9-Carbazolyl, 1-, 2-, 3-, 4-, 5-, 6-, 7-, 8- oder 9-Acridinyl, 3-, 4-, 5-, 6-, 7- oder 8-Cinnolinyl, 2-, 4-, 5-, 6-, 7- oder 8-Chinazolinyl. Die heterocyclischen Reste können auch teilweise oder vollständig hydriert sein. Het kann also auch bedeuten 2,3-Dihydro-2-, -3-, -4- oder -5-furyl, 2,5-Dihydro-2-, -3-, -4- oder -5-furyl, Tetrahydro-2- oder -3-furyl, 1,3-Dioxolan-4-yl, Tetrahydro-2- oder -3-thienyl, 2,3-Dihydro-
15 1-, -2-, -3-, -4- oder -5-pyrrolyl, 2,5-Dihydro-1-, -2-, -3-, -4- oder -5-pyrrolyl, 1-, 2- oder 3-Pyrrolidinyl, Tetrahydro-1-, -2- oder -3-pyrrolyl, Tetrahydro-1-, -2- oder 4-imidazolyl, 2,3-Dihydro-1-, -2-, -3-, -4- oder -5-pyrazolyl, Tetrahydro-1-, -3- oder -4-pyrazolyl, 1,4-Dihydro-1-, -2-, -3- oder -4-pyridyl, 1,2,3,4-Tetrahydro-1-, -2-, -3-, -4-, -5- oder -6-pyridyl, 1,2,3,6-Tetrahydro-1-, -2-, -3-, -4-, -5- oder -6-pyridyl, 1-, 2-, 3- oder 4-Piperidinyl, 1-, 2-, 3- oder 4-Azepanyl, 2-, 3- oder 4-Morpholinyl, Tetrahydro-2-, -3- oder -4-pyranyl, 1,4-Dioxanyl, 1,3-Dioxan-2-, -4- oder -5-yl, Hexahydro-1-, -3- oder -4-pyridazinyl, Hexahydro-1-, -2-, -4- oder -5-pyrimidinyl, 1-, 2- oder 3-Piperazinyl, 1,2,3,4-Tetrahydro-1-, -2-, -3-, -4-, -5-, -6-, -7- oder -8-chinolinyl, 1,2,3,4-Tetrahydro-1-, -2-, -3-, -4-, -5-, -6-, -7- oder -8-isochinolinyl.
20 Besonders bevorzugt ist Het Methylpyridyl, insbesondere 4-Methylpyridin-2-yl, Pyridin-2-yl, Pyrimidin-2-yl, Imidazol-2-yl, Benzimidazol-2-yl und deren hydrierte Derivate.

- 13 -

OA bedeutet vorzugsweise Methoxy, Ethoxy, Propoxy oder Butoxy, ferner auch Pentyloxy oder Hexyloxy.

R¹ und R⁵ bedeuten unabhängig voneinander vorzugsweise H, A, CN,

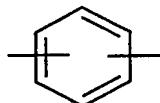
5 NO₂, Hal oder -COA-, wobei A eine der zuvor angegebenen Bedeutungen hat; insbesondere bedeutet R¹ und R⁵ H.

R² bedeutet vorzugsweise H oder A, wobei A eine der zuvor angegebenen Bedeutungen hat; insbesondere H.

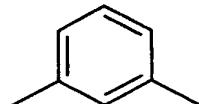
10 R³ und R⁴ bedeuten unabhängig voneinander vorzugsweise H oder -COA-, insbesondere H.

X bedeutet bevorzugt H, -C(=NH)-NH₂, -C(=NMethyl)-NH₂, 4-Methylpyridin-15 2-yl, Pyridin-2-yl, Pyrimidin-2-yl, Imidazol-2-yl, Benzimidazol-2-yl und deren hydrierte Derivate.

Y bedeutet -(CH₂)_m- oder



insbesondere -(CH₂)₄- oder

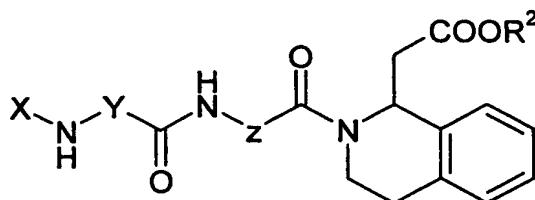
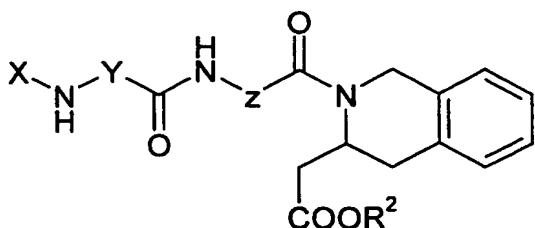


n und p bedeuten unabhängig voneinander vorzugsweise 1 oder 2, insbesondere 1.

30 m bedeutet bevorzugt 0, 2 oder 4, insbesondere 0 oder 4.

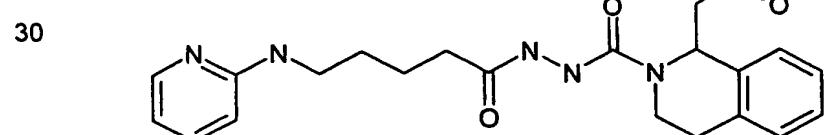
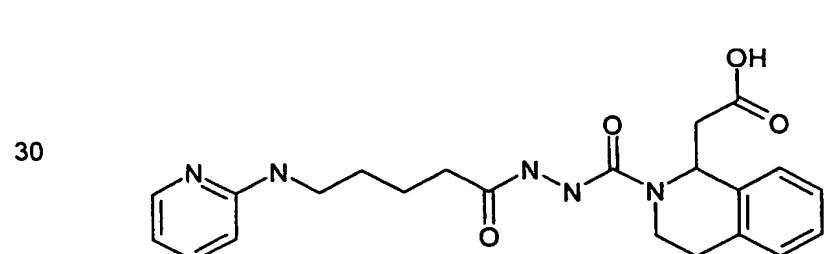
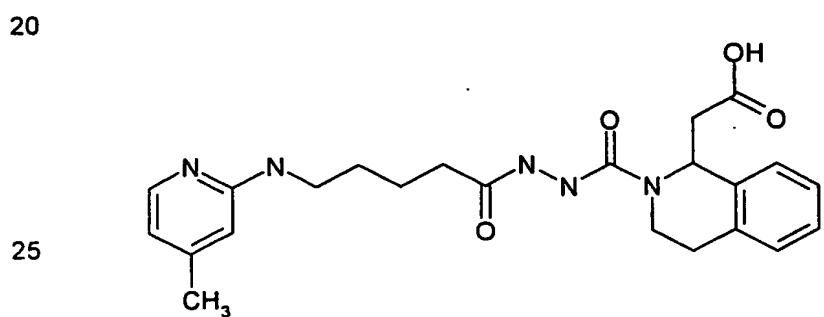
Bevorzugt sind die Verbindungen der Formeln IA und IB:

- 14 -

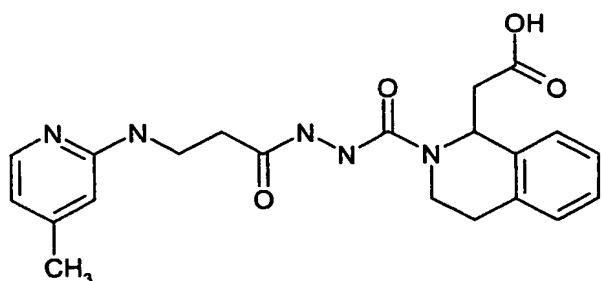


worin X, Y, Z und R² die oben angegebene Bedeutung aufweisen. R² bedeutet in den Formeln IA und IB insbesondere H.

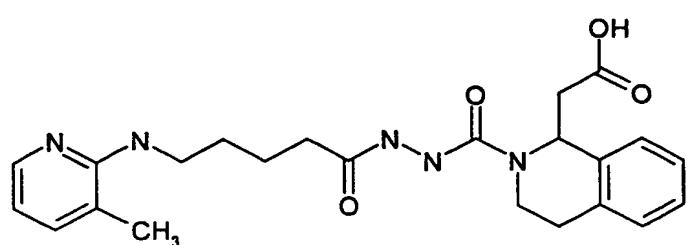
Dementsprechend sind Gegenstand der Erfindung insbesondere diejenigen Verbindungen der Formel I, in denen mindestens einer der genannten Reste eine der vorstehend angegebenen bevorzugten Bedeutungen hat. Einige bevorzugte Gruppen von Verbindungen können durch die folgenden Teilformeln I1 bis I36 ausgedrückt werden:



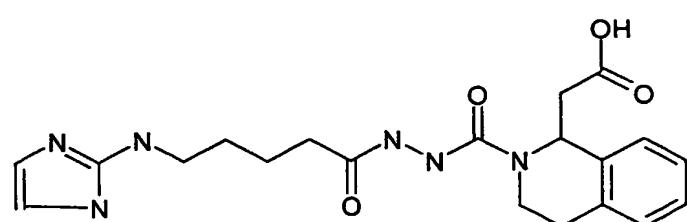
- 15 -



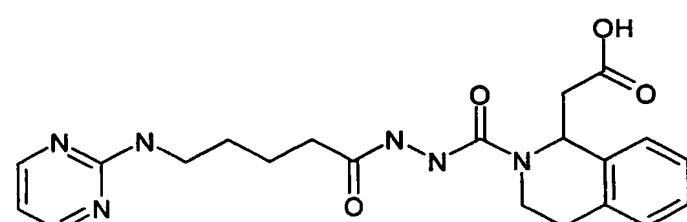
I4



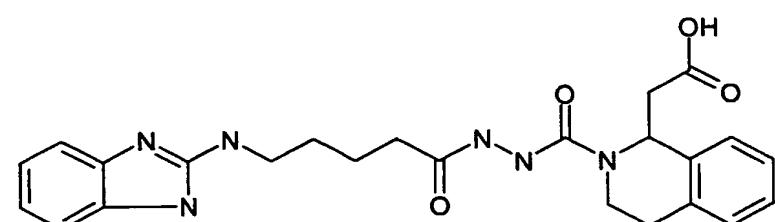
I5



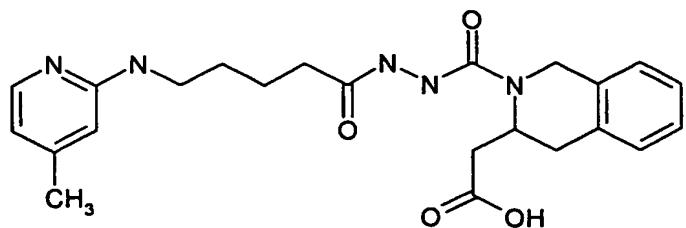
I6



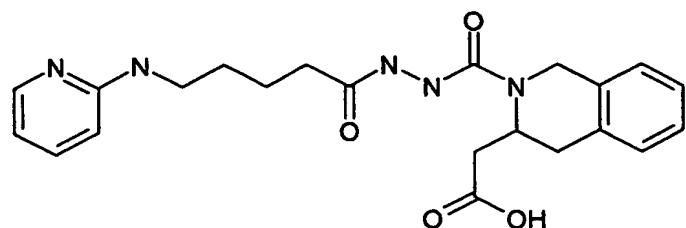
I7



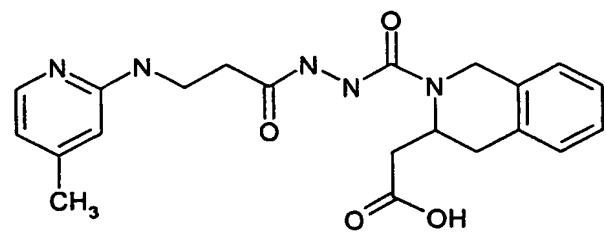
I8



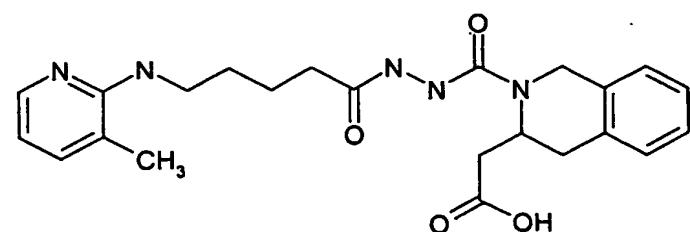
19



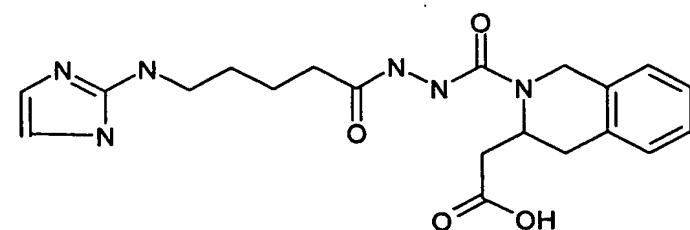
110



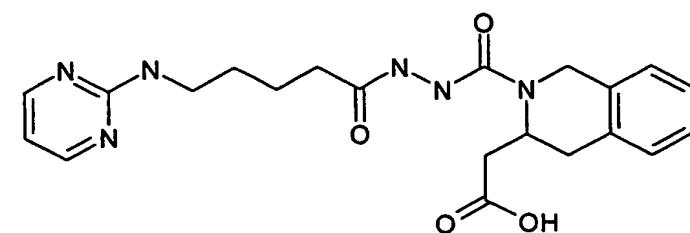
111



112

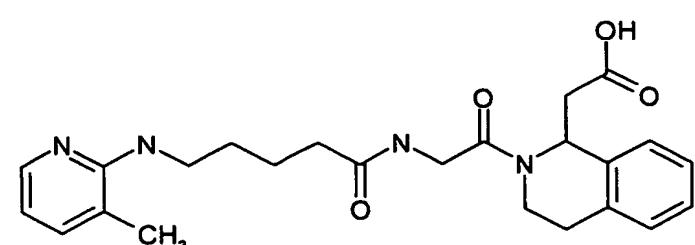
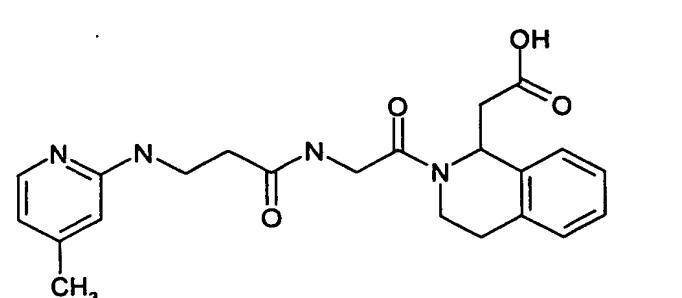
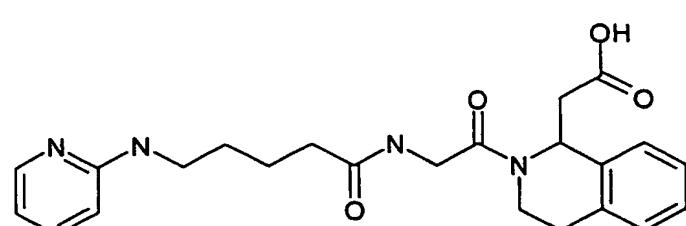
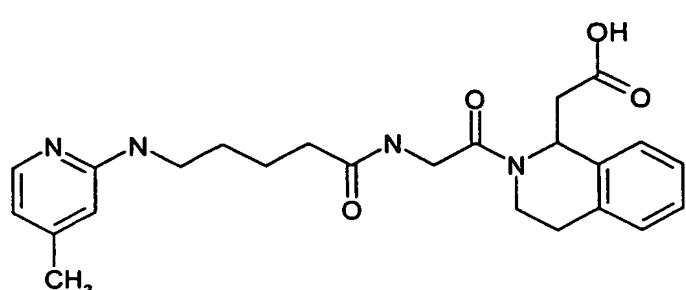
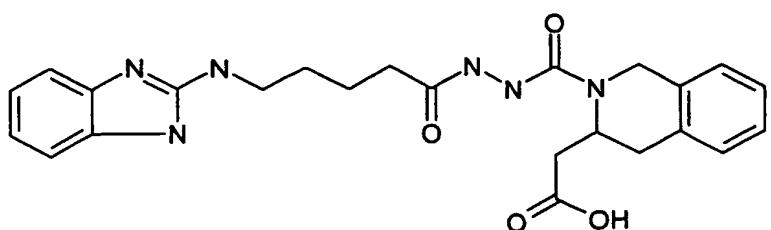


113

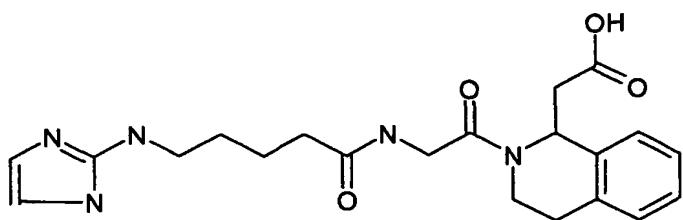


35

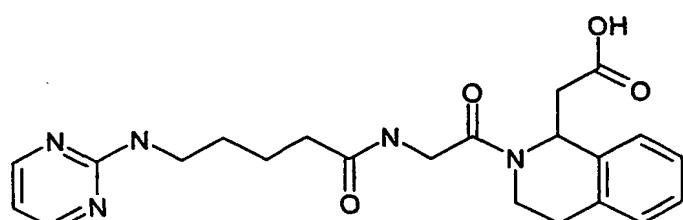
- 17 -



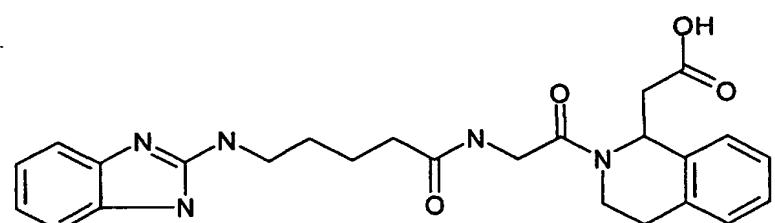
- 18 -



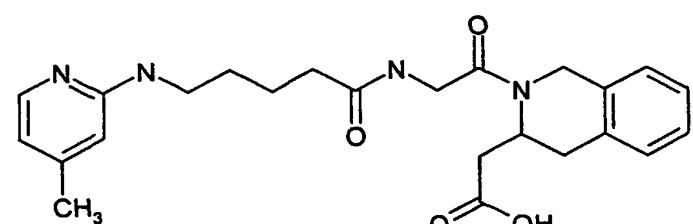
I20



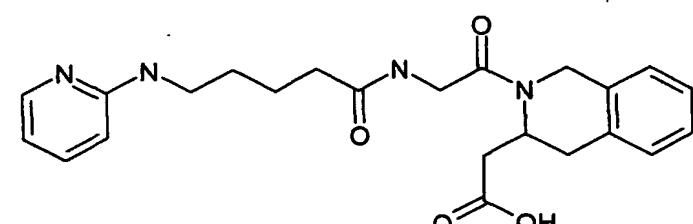
I21



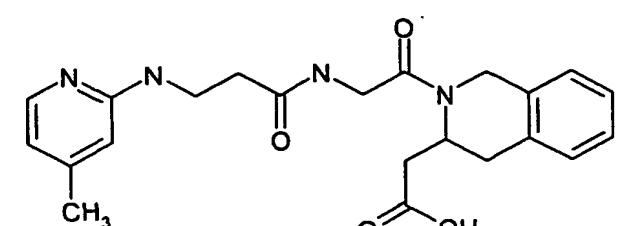
I22



I23

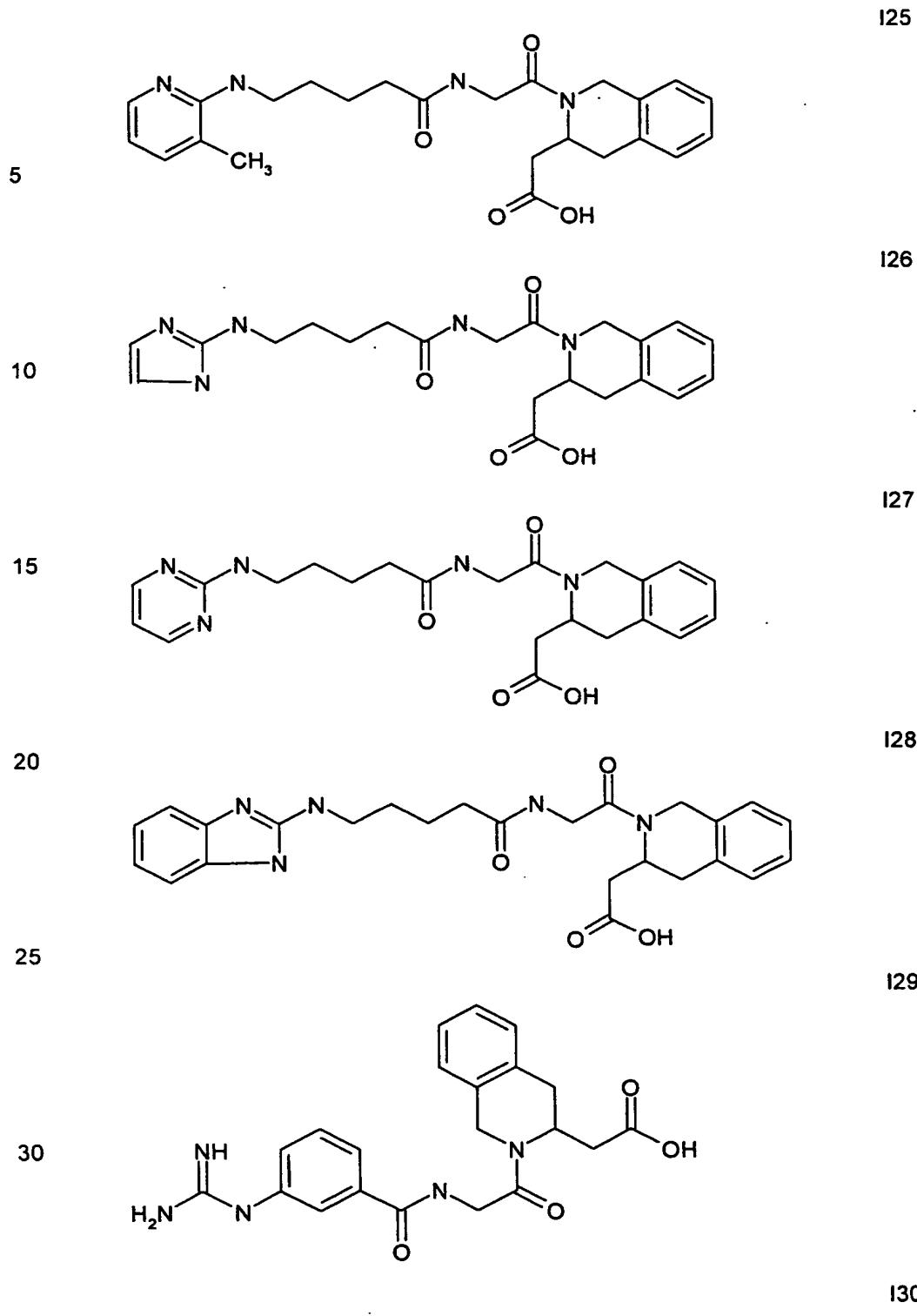


I24

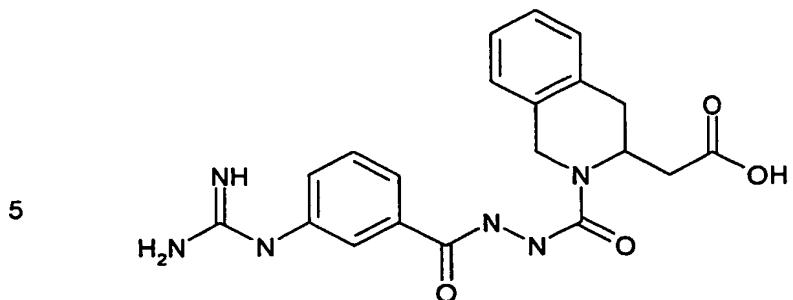


35

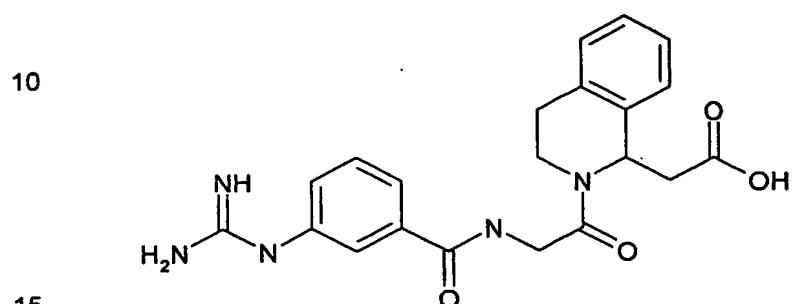
- 19 -



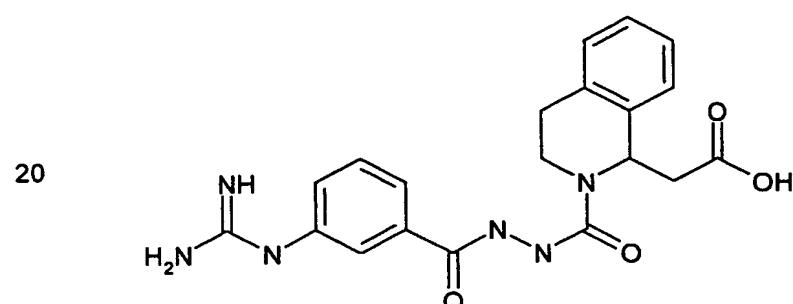
- 20 -



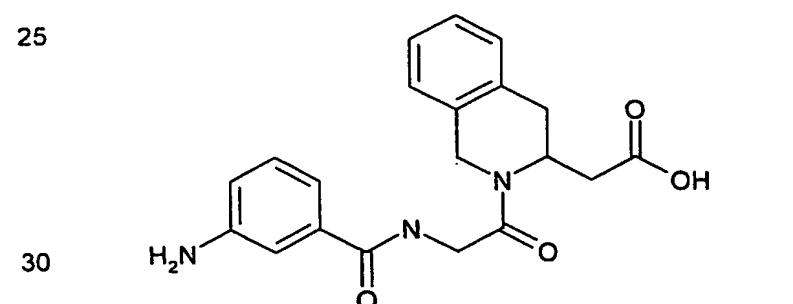
I31



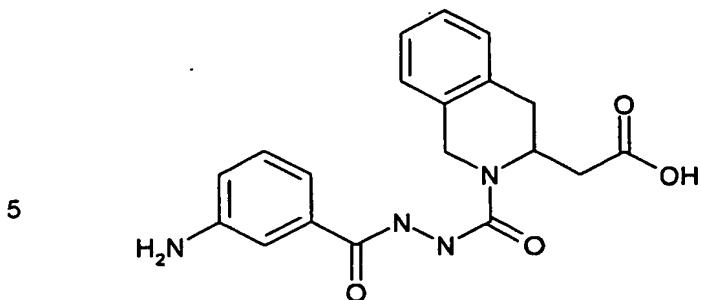
I32



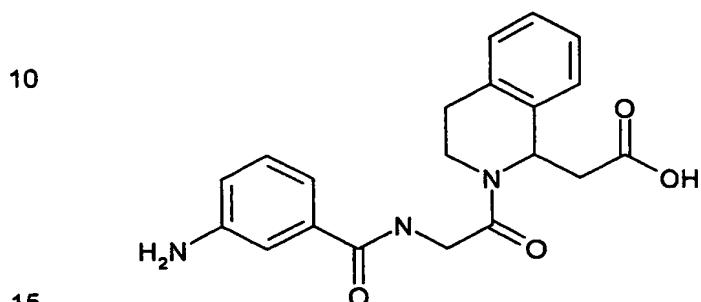
I33



I34

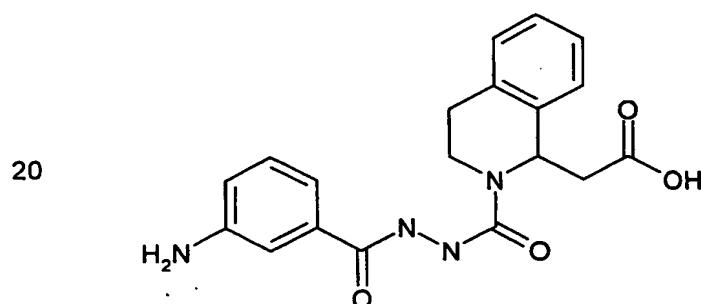


I35



15

I36



25

Die Verbindungen der Formel I und auch die Ausgangsstoffe zu ihrer Herstellung werden im übrigen nach an sich bekannten Methoden hergestellt, wie sie in der Literatur (z.B. in den Standardwerken wie Houben-Weyl, Methoden der organischen Chemie, Georg-Thieme-Verlag, Stuttgart) beschrieben sind, und zwar unter Reaktionsbedingungen, die für die genannten Umsetzungen bekannt und geeignet sind. Dabei kann man auch von an sich bekannten, hier nicht näher erwähnten Varianten Gebrauch machen.

30

Die Ausgangsstoffe können, falls erwünscht, auch *in situ* gebildet werden, so daß man sie aus dem Reaktionsgemisch nicht isoliert, sondern sofort weiter zu den Verbindungen der Formel I umsetzt.

35

Verbindungen der Formel I können vorzugsweise unter den Bedingungen einer Peptidsynthese erhalten werden. Dabei arbeitet man zweckmäßig nach üblichen Methoden der Peptidsynthese, wie sie z.B. in Houben-Weyl, 5 1.c., Band 15/II, Seite 1 bis 806 (1974) beschrieben sind.

Die direkten Vorstufen der Verbindungen der Formel I können auch z.B. nach Merrifield (Angew. Chem. 97, 801-812, 1985) an einer festen Phase, z.B. einem quellfähigen Polystyrolharz, aufgebaut werden.

10 Als feste Phase können prinzipiell alle Träger, wie sie z.B. aus der Festphasen-Peptidchemie oder Nucleinsäuresynthese bekannt sind, verwendet werden.

Als polymere Trägermaterialien eignen sich polymere feste Phasen mit vorzugsweise hydrophilen Eigenschaften, beispielsweise quervernetzte 15 Polyzucker wie Cellulose, Sepharose oder Sephadex^R, Acrylamide, Polymer auf Polyethylenglykolbasis oder Tentakelpolymere^R. Vorzugsweise wird als feste Phase Tritylchloridpolystyrol-Harz, 4-Methoxytritylchlorid-Harz, Merrifield-Harz, und Wang-Harz eingesetzt.

20 So können Verbindungen der Formel I erhalten werden, indem man eine Verbindung der Formel II mit einer Verbindung der Formel III umsetzt, und anschließend die Schutzgruppen oder die feste Phase entfernt.

25 Die Verbindungen der Formel I können ebenfalls erhalten werden, indem man eine Verbindung der Formel IV mit einer Verbindung der Formel V umsetzt, und anschließend die Schutzgruppen entfernt.

30 Die Kupplungsreaktion gelingt vorzugsweise in Gegenwart eines Dehydratisierungsmittels, z.B. eines Carbodiimids wie DCCI oder EDCI, ferner z.B. Propanphosphonsäureanhydrid (vgl. Angew. Chem. **1980**, 92, 129), Diphenylphosphorylazid oder 2-Ethoxy-N-ethoxycarbonyl-1,2-dihydrochinolin, in einem inerten Lösungsmittel, z.B. einem halogenierten Kohlenwasserstoff wie Dichlormethan, einem Ether wie Tetrahydrofuran oder Dioxan, einem Amid wie DMF oder Dimethylacetamid, einem Nitril wie 35 Acetonitril, in Dimethylsulfoxid oder in Gegenwart dieser Lösungsmittel, bei Temperaturen zwischen etwa -10 und 40, vorzugsweise zwischen 0 und

30°. Um die intramolekulare Cyclisierung vor der intermolekularen Peptidbindung zu fördern, ist es zweckmäßig, in verdünnten Lösungen zu arbeiten.

Die Reaktionszeit liegt je nach den angewendeten Bedingungen zwischen einigen Minuten und 14 Tagen.

5 Anstelle von Verbindungen der Formel II und/oder IV können auch Derivate von Verbindungen der Formel II und/oder IV, vorzugsweise eine voraktivierte Carbonsäure, oder ein Carbonsäurehalogenid, ein symmetrisches oder gemischtes Anhydrid oder ein Aktivester eingesetzt werden. Derartige Reste zur Aktivierung der Carboxygruppe in typischen Acylierungsreaktionen sind in der Literatur (z.B. in den Standardwerken wie Houben-Weyl, Methoden der organischen Chemie, Georg-Thieme-Verlag, Stuttgart) beschrieben.

10 15 Aktivierte Ester werden zweckmäßig *in situ* gebildet, z. B. durch Zusatz von HOEt oder N-Hydroxysuccinimid.

Die Umsetzung erfolgt in der Regel in einem inerten Lösungsmittel, bei Verwendung eines Carbonsäurehalogenids in Gegenwart eines 20 säurebindenden Mittels vorzugsweise einer organischen Base wie Triethylamin, Dimethylanilin, Pyridin oder Chinolin.

Auch der Zusatz eines Alkali- oder Erdalkalimetall-hydroxids, -carbonats oder -bicarbonats oder eines anderen Salzes einer schwachen Säure der Alkali- oder Erdalkalimetalle, vorzugsweise des Kaliums, Natriums, 25 Calciums oder Cäsiums kann günstig sein.

Die Verbindungen der Formel I können ferner erhalten werden, indem man sie aus ihren funktionellen Derivaten durch Solvolyse, insbesondere Hydrolyse, oder durch Hydrogenolyse in Freiheit setzt.

30 Bevorzugte Ausgangsstoffe für die Solvolyse bzw. Hydrogenolyse sind solche, die sonst der Formel I entsprechen, aber anstelle einer oder mehrerer freier Amino- und/oder Hydroxygruppen entsprechende geschützte Amino- und/oder Hydroxygruppen enthalten, insbesondere 35 solche, die anstelle einer H-N-Gruppe eine SG¹-N-Gruppe tragen, worin SG¹ eine Aminoschutzgruppe bedeutet und/oder solche, die anstelle des

H-Atoms einer Hydroxygruppe eine Hydroxyschutzgruppe tragen, z.B. solche, die der Formel I entsprechen, jedoch anstelle einer Gruppe -COOH eine Gruppe -COOSG² tragen, worin SG² eine Hydroxyschutzgruppe bedeutet.

5

Es können auch mehrere - gleiche oder verschiedene - geschützte Amino- und/oder Hydroxygruppen im Molekül des Ausgangsstoffes vorhanden sein. Falls die vorhandenen Schutzgruppen voneinander verschieden sind, können sie in vielen Fällen selektiv abgespalten werden (vgl. dazu: T.W.

10

Greene, P.G.M. Wuts, *Protective Groups in Organic Chemistry*, 2. Aufl., Wiley, New York 1991 oder P.J. Kocienski, *Protecting Groups*, 1. Aufl., Georg Thieme Verlag, Stuttgart - New-York, 1994, H. Kunz, H. Waldmann in *Comprehensive Organic Synthesis*, Vol. 6 (Hrsg. B.M. Trost, I. Fleming, E. Winterfeldt), Pergamon, Oxford, 1991, S. 631-701).

15

Der Ausdruck "Aminoschutzgruppe" ist allgemein bekannt und bezieht sich auf Gruppen, die geeignet sind, eine Aminogruppe vor chemischen Umsetzungen zu schützen (zu blockieren). Typisch für solche Gruppen sind insbesondere unsubstituierte oder substituierte Acyl-, Aryl-,

20

Aralkoxymethyl- oder Aralkylgruppen. Da die Aminoschutzgruppen nach der gewünschten Reaktion (oder Reaktionsfolge) entfernt werden, ist ihre Art und Größe im übrigen nicht kritisch; bevorzugt werden jedoch solche mit 1-20 C-Atomen. Der Ausdruck "Acylgruppe" ist im Zusammenhang mit dem vorliegenden Verfahren im weitesten Sinne aufzufassen. Er

25

umschließt von aliphatischen, araliphatischen, alicyclischen, aromatischen oder heterocyclischen Carbonsäuren oder Sulfonsäuren abgeleitete Acylgruppen sowie insbesondere Alkoxy-carbonyl-, Alkenyloxycarbonyl-, Aryloxycarbonyl- und vor allem Aralkoxy-carbonylgruppen. Beispiele für derartige Acylgruppen sind Alkanoyl wie Acetyl, Propionyl, Butyryl;

30

Aralkanoyl wie Phenylacetyl; Aroyl wie Benzoyl oder Toluyl; Aryloxyalkanoyl wie Phenoxyacetyl; Alkoxycarbonyl wie Methoxycarbonyl, Ethoxycarbonyl, 2,2,2-Trichlorethoxy-carbonyl, Boc, 2-Iodethoxycarbonyl; Alkenyloxycarbonyl wie Allyloxycarbonyl (Alloc), Aralkyloxycarbonyl wie CBZ (synonym mit Z), 4-Methoxy-benzyloxycarbonyl (MOZ), 4-Nitro-benzyloxycarbonyl oder 9-Fluorenylmethoxycarbonyl (Fmoc); 2-(Phenylsulfonyl)ethoxycarbonyl; Trimethylsilylethoxycarbonyl (Teoc) oder

Arylsulfonyl wie 4-Methoxy-2,3,6-trimethylphenyl-sulfonyl (Mtr). Bevorzugte Aminoschutzgruppen sind Boc, Fmoc und Aloc, ferner Z, Benzyl und Acetyl.

- 5 Der Ausdruck "Hydroxyschutzgruppe" ist ebenfalls allgemein bekannt und bezieht sich auf Gruppen, die geeignet sind, eine Hydroxygruppe vor chemischen Umsetzungen zu schützen. Typisch für solche Gruppen sind die oben genannten unsubstituierten oder substituierten Aryl-, Aralkyl-, Aroyl- oder Acylgruppen, ferner auch Alkylgruppen, Alkyl-, Aryl- oder
10 Aralkyl-silylgruppen oder O,O- oder O,S-Acetale. Die Natur und Größe der Hydroxyschutzgruppen ist nicht kritisch, da sie nach der gewünschten chemischen Reaktion oder Reaktionsfolge wieder entfernt werden; bevorzugt sind Gruppen mit 1-20, insbesondere 1-10 C-Atomen. Beispiele für Hydroxyschutzgruppen sind u.a. Aralkylgruppen wie Benzyl, 4-
15 Methoxybenzyl oder 2,4-Dimethoxybenzyl, Aroylgruppen wie Benzoyl oder p-Nitrobenzoyl, Acylgruppen wie Acetyl oder Pivaloyl, p-Toluolsulfonyl, Alkylgruppen wie Methyl oder tert.-Butyl, aber auch Allyl, Alkylsilylgruppen wie Trimethylsilyl (TMS), Triisopropylsilyl (TIPS), tert.-Butyldimethylsilyl (TBS) oder Triethylsilyl, Trimethylsilylethyl, Aralkylsilylgruppen wie tert.-
20 Butyldiphenylsilyl (TBDPS), cyclische Acetale wie Isopropyliden-, Cyclopentyliden-, Cyclohexyliden-, Benzyliden-, p-Methoxybenzyliden- oder o,p-Dimethoxybenzylidenacetal, acyclische Acetale wie Tetrahydropyranyl (Thp), Methoxymethyl (MOM), Methoxyethoxymethyl (MEM), Benzyloxymethyl (BOM) oder Methylthiomethyl (MTM). Besonders
25 bevorzugte Hydroxyschutzgruppen sind Benzyl, Acetyl, tert.-Butyl oder TBS.

Das In-Freiheit-Setzen der Verbindungen der Formel I aus ihren funktionellen Derivaten ist für die jeweils benutzte Schutzgruppe aus der Literatur bekannt (z.B. T.W. Greene, P.G.M. Wuts, *Protective Groups in Organic Chemistry*, 2. Aufl., Wiley, New York 1991 oder P.J. Kocienski, *Protecting Groups*, 1. Aufl., Georg Thieme Verlag, Stuttgart - New-York, 1994). Dabei kann man auch von an sich bekannten, hier nicht näher erwähnten Varianten Gebrauch machen.

Eine Base der Formel I kann mit einer Säure in das zugehörige
Säureadditionssalz überführt werden, beispielsweise durch Umsetzung
äquivalenter Mengen der Base und der Säure in einem inerten
Lösungsmittel wie Ethanol und anschließendes Eindampfen. Für diese
5 Umsetzung kommen insbesondere Säuren in Frage, die physiologisch
unbedenkliche Salze liefern. So können anorganische Säuren verwendet
werden, z.B. Schwefelsäure, schweflige Säure, Dithionsäure,
10 Salpetersäure, Halogenwasserstoffsäuren wie Chlorwasserstoffsäure oder
Bromwasserstoffsäure, Phosphorsäuren wie z.B. Orthophosphorsäure,
Sulfaminsäure, ferner organische Säuren, insbesondere aliphatische,
15 alicyclische, araliphatische, aromatische oder heterocyclische ein- oder
mehrbasige Carbon-, Sulfon- oder Schwefelsäuren, z.B. Ameisensäure,
Essigsäure, Propionsäure, Hexansäure, Octansäure, Decansäure,
Hexadecansäure, Octadecansäure, Pivalinsäure, Diethylessigsäure,
20 Malonsäure, Bernsteinsäure, Pimelinsäure, Fumarsäure, Maleinsäure,
Milchsäure, Weinsäure, Äpfelsäure, Citronensäure, Gluconsäure,
Ascorbinsäure, Nicotinsäure, Isonicotinsäure, Methan- oder
Ethansulfonsäure, Benzolsulfonsäure, Trimethoxybenzoësäure,
Adamantancarbonsäure, p-Toluolsulfonsäure, Glycolsäure, Embonsäure,
25 Chlorphenoxyessigsäure, Asparaginsäure, Glutaminsäure, Prolin,
Glyoxylsäure, Palmitinsäure, Parachlorphenoxyisobuttersäure,
Cyclohexancarbonsäure, Glucose-1-phosphat, Naphthalin-mono- und
disulfonsäuren oder Laurylschwefelsäure. Salze mit physiologisch nicht
unbedenklichen Säuren, z.B. Pikrate, können zur Isolierung und/oder
Aufreinigung der Verbindungen der Formel I verwendet werden.
Andererseits können Verbindungen der Formel I mit Basen (z.B. Natrium-
oder Kaliumhydroxid oder -carbonat) in die entsprechenden Metall-,
insbesondere Alkalimetall- oder Erdalkalimetall- oder in die
entsprechenden Ammoniumsalze umgewandelt werden. Als Salze
30 kommen ferner substituierte Ammoniumsalze, z.B. die Dimethyl-, Diethyl-
oder Diisopropyl-ammoniumsalze, Monoethanol-, Diethanol- oder
Diisopropylammoniumsalze, Cyclohexyl-, Dicyclohexylammoniumsalze,
Dibenzylethylendiammoniumsalze, weiterhin z.B. Salze mit Arginin oder
Lysin.

Gegenstand der Erfindung ist ferner die Verwendung der Verbindungen der Formel I und/oder ihrer physiologisch unbedenklichen Salze zur Herstellung einer pharmazeutischen Zubereitung.

- 5 Gegenstand der Erfindung sind ferner pharmazeutische Zubereitungen, enthaltend mindestens eine Verbindung der Formel I und/oder eines ihrer physiologisch unbedenklichen Salze oder Solvate, die insbesondere auf nicht-chemischem Wege hergestellt werden. Hierbei können die Verbindungen der Formel I zusammen mit mindestens einem festen, 10 flüssigen und/oder halbflüssigen Träger- oder Hilfsstoff und gegebenenfalls in Kombination mit einem oder mehreren weiteren Wirkstoffen in eine geeignete Dosierungsform gebracht werden.

Diese Zubereitungen können als Arzneimittel in der Human- oder 15 Veterinärmedizin verwendet werden. Als Trägerstoffe kommen organische oder anorganische Substanzen in Frage, die sich für die enterale (z.B. orale), parenterale oder topische Applikation eignen und mit den neuen Verbindungen nicht reagieren, beispielsweise Wasser, pflanzliche Öle, Benzylalkohole, Alkylenglykole, Polyethylenglykole, Glycerintriacetat, 20 Gelatine, Kohlenhydrate wie Lactose oder Stärke, Magnesiumstearat, Talk, Vaseline. Zur oralen Anwendung dienen insbesondere Tabletten, Pillen, Dragees, Kapseln, Pulver, Granulate, Sirupe, Säfte oder Tropfen, zur rektalen Anwendung Suppositorien, zur parenteralen Anwendung Lösungen, vorzugsweise ölige oder wässrige Lösungen, ferner 25 Suspensionen, Emulsionen oder Implantate, für die topische Anwendung Salben, Cremes oder Puder. Die neuen Verbindungen können auch lyophilisiert und die erhaltenen Lyophilisate z.B. zur Herstellung von Injektionspräparaten verwendet werden. Die angegebenen Zubereitungen können sterilisiert sein und/oder Hilfsstoffe wie Gleit-, Konservierungs-, 30 Stabilisierungs- und/oder Netzmittel, Emulgatoren, Salze zur Beeinflussung des osmotischen Druckes, Puffersubstanzen, Farb-, Geschmacks- und/oder mehrere weitere Wirkstoffe enthalten, z.B. ein oder mehrere Vitamine.
Für die Applikation als Inhalationsspray können Sprays verwendet werden, 35 die den Wirkstoff entweder gelöst oder suspendiert in einem Treibgas oder Treibgasgemisch (z.B. CO₂ oder Fluorchlorkohlenwasserstoffen) enthalten.

Zweckmäßig verwendet man den Wirkstoff dabei in mikronisierter Form, wobei ein oder mehrere zusätzliche physiologisch verträgliche Lösungsmittel zugegen sein können, z.B. Ethanol. Inhalationslösungen können mit Hilfe üblicher Inhalatoren verabreicht werden.

5

Die Verbindungen der Formel I und ihre physiologisch unbedenklichen Salze können als Integrinhibitoren bei der Bekämpfung von Krankheiten, insbesondere von Thrombosen, Herzinfarkt, koronaren Herzerkrankungen, Arteriosklerose, Tumoren, Osteoporose, Entzündungen und Infektionen verwendet werden.

10

Die Verbindungen der Formel I nach Anspruch 1 und/oder ihre physiologisch unbedenklichen Salze finden auch Verwendung bei pathologischen Vorgängen, die durch Angiogenese unterhalten oder propagiert werden, insbesondere bei Tumoren oder rheumatoider Arthritis.

Dabei werden die erfindungsgemäßen Substanzen in der Regel in Analogie zu anderen bekannten, im Handel befindlichen Peptiden, insbesondere aber in Analogie zu den in der US-A-4-472 305

20

beschriebenen Verbindungen verabreicht, vorzugsweise in Dosierungen zwischen etwa 0,05 und 500 mg, insbesondere zwischen 0,5 und 100 mg pro Dosierungseinheit. Die tägliche Dosierung liegt vorzugsweise zwischen etwa 0,01 und 2 mg/kg Körpergewicht. Die spezielle Dosis für jeden Patienten hängt jedoch von den verschiedensten Faktoren ab,

25

beispielsweise von der Wirksamkeit der eingesetzten speziellen Verbindung, vom Alter, Körpergewicht, allgemeinen Gesundheitszustand, Geschlecht, von der Kost, vom Verabreichungszeitpunkt und -weg, von der Ausscheidungsgeschwindigkeit, Arzneistoffkombination und Schwere der jeweiligen Erkrankung, welcher die Therapie gilt. Die parenterale

30

Applikation ist bevorzugt.

Ferner können die Verbindungen der Formel I als Integrinliganden zur Herstellung von Säulen für die Affinitätschromatographie zur Reindarstellung von Integrinen verwendet werden.

Der Ligand, d.h. eine Verbindung der Formel I, wird dabei über eine Ankerfunktion, z.B. die Carboxygruppe von Asp, an einen polymeren Träger kovalent gekuppelt.

- 5 Die Herstellung der Materialien für die Affinitätschromatographie zur Integrinreinigung erfolgt unter Bedingungen wie sie für die Kondensation von Aminosäuren üblich und an sich bekannt sind.

Die Verbindungen der Formel I enthalten ein oder mehrere chirale Zentren
10 und können daher in racemischer oder in optisch-aktiver Form vorliegen. Erhaltene Racemate können nach an sich bekannten Methoden mechanisch oder chemisch in die Enantiomeren getrennt werden. Vorzugsweise werden aus dem racemischen Gemisch durch Umsetzung mit einem optisch aktiven Trennmittel Diastereomere gebildet. Als Trennmittel eignen sich z.B. optisch aktive Säuren, wie die D- und L-Formen von Weinsäure,
15 Diacetylweinsäure, Dibenzoylweinsäure, Mandelsäure, Äpfelsäure, Milchsäure oder die verschiedenen optisch aktiven Camphersulfonsäuren wie β -Camphersulfonsäure. Vorteilhaft ist auch eine Enantiomerentrennung mit Hilfe einer mit einem optisch aktiven Trennmittel (z.B. Dinitrobenzoylphenylglycin) gefüllten Säule; als Laufmittel eignet sich z.B. ein Gemisch
20 Hexan/Isopropanol/Acetonitril, z.B. im Volumenverhältnis 82:15:3.

Natürlich ist es auch möglich, optisch aktive Verbindungen der Formel I nach den oben beschriebenen Methoden zu erhalten, indem man Ausgangsstoffe verwendet, die bereits optisch aktiv sind.
25

Vor- und nachstehend sind alle Temperaturen in °C angegeben. In den nachfolgenden Beispielen bedeutet "übliche Aufarbeitung": Man gibt, falls erforderlich, Wasser hinzu, stellt, falls erforderlich, je nach Konstitution des Endprodukts auf pH-Werte zwischen 2 und 10 ein, extrahiert mit Ethylacetat oder Dichlormethan, trennt ab, trocknet die organische Phase über Natriumsulfat, dampft ein und reinigt durch Chromatographie an Kieselgel und /oder durch Kristallisation.
30

35 RT = Retentionszeit (Minuten) bei HPLC in den folgenden Systemen:
Säulen der Firma Omnicrom YMC:

1. 4,6x250 mm, 5 µm, C₁₈ (Analytik);
2. 30x250 mm, 7µm, C₁₈ (Präparation).

Als Eluenten kommen Gradienten aus Acetonitril (B) mit 0,1 % TFA und

Wasser (A) mit 0,1 % TFA zum Einsatz (Angaben jeweils in

5 Volumenprozent Acetonitril). Retentionszeit RT wurde bei einem Fluß von
1 ml/min. ermittelt.

Detektion bei 220 nm.

Die Trennung der Diastereomeren erfolgt vorzugsweise unter den

10 angegebenen Bedingungen.

Massenspektrometrie (MS): ESI (Elektrospray-Ionisation) (M+H)⁺
FAB (Fast-Atom-Bombardment)
(M+H)⁺.

15

1. Material und Allgemeine Arbeitsvorschriften

Lösungsmittel für die Synthese wurden entweder "technisch" erhalten und
vor Benutzung destilliert oder von Fluka (Seelze) oder Merck (Darmstadt)
20 in den Reinheitsgraden "absolut" oder "zur Synthese" gekauft. NMP
(destilliert) wurde von BASF (Ludwigshafen) kostenlos erhalten.

Lösungsmittel für die Säulenchromatographie wurden "technisch" erhalten
und entweder vor Benutzung destilliert oder undestilliert eingesetzt
(Hexan). Die HPLC-Lösungsmittel Acetonitril (Lösungsmittel B) und TFA
25 wurden im Reinheitsgrad "gradient grade" von Merck (Darmstadt) gekauft,
Wasser (Lösungsmittel A) wurde deionisiert und mit einem Milli-Q System
von Millipore (Molsheim, Frankreich) aufbereitet.

Fmoc-geschützte Aminosäuren wurden von Novabiochem, Advanced

30 ChemTech, MultiSynTech oder PepTech Corporation (Cambridge, USA)
gekauft.

Zur manuellen Festphasensynthese wurden PE-Spritzen von Becton-
Dickinson (Fraga, Spain) oder Braun (Melsungen) mit PE-Fritten von

35 Roland Vetter Laborbedarf (Ammerbuch) verwendet. Die Spritzen wurden

zur Durchmischung der Harzsuspension mit etwa 30 rpm rotiert. Die Beladung des Harzes erfolgte in Schüttelgefäß aus Glas.

Luft- oder Feuchtigkeitsempfindliche Reaktionen wurden in trockenen
5 Glasgefäßen und unter Argonatmosphäre durchgeführt (99.996 %).
Hygrokopische und/oder absolutierte Lösungsmittel wurden in Spritzen
unter Argon transferiert.

Zur HPLC-Reinigung wurden die Verbindungen in DMSO, Acetonitril oder
10 Methanol ("gradient grade") gelöst und mit durch einen Spritzenfilter RC 15
or RC 25 (RC-Membran, 0.45 µm) von Sartorius (Göttingen) filtriert.
Analytische, semi-präparative und präparative Trennungen wurden auf
zwei HPLC-Systemen der Firma Amersham Pharmacia Biotech
15 (analytisch: Äkta Basic 10F mit Autosampler A-900; präparativ: Äkta Basic
100F mit Pumpensystem P-900 und Detektor UV-900) und zwei Systemen
der Firma Beckman (System Gold mit Lösungsmittelmodul 125 und
Detektormodul 166; Pumpensystem 110B, Kontrolleinheit 420 und
Detektor Knauer Uvicord) durchgeführt. Folgende Säulen wurden für
analytische Trennungen verwendet: ODS-A C₁₈ (250 mm × 4.6 mm, 5 µm,
20 Flussrate: 1 mL/min) von Omnicrom YMC; für semi-präparative
Trennungen: ODS-A C₁₈ (250 mm × 20 mm, 5 µm oder 10 µm, Flussrate: 8
mL/min) von Omnicrom YMC; für präparative Trennungen: ODS-A C₁₈
(250 mm × 30 mm, 10 µm, Flussrate: 25 mL/min) von Omnicrom YMC und
Nucleosil C₁₈ (250 mm × 20 mm, 7 µm, Flussrate: 25 mL/min) von
25 Macherey-Nagel. Die Verbindungen wurden mit linearen Gradienten (30
min) von Acetonitril (Lösungsmittel B) in Wasser (Lösungsmittel A) und 0.1
% (v/v) TFA eluiert. Zur analytischen Reinheitsbestimmung der
Verbindungen nach semi-präparativer oder präparativer HPLC-Reinigung
wurde das Peakintegral des analytischen HPLC-Chromatogramms bei 220
30 nm Detektorwellenlänge ausgewertet.

Zur Säulenchromatographie wurde Silica Gel 60 (230-400 mesh ASTM,
Korngröße 0,040-0,063 mm) von Merck (Darmstadt) verwendet,
Flashchromatographie wurde bei 1-1.2 bar Überdruck durchgeführt.

Dünnschichtchromatographie (DC) und die Bestimmung der R_f-Werte wurden unter Verwendung von DC Aluminiumplatten beschichtet mit Silica Gel 60 F₂₅₄ von Merck (Darmstadt) durchgeführt. Zur Detektion wurden die DC-Platten unter UV-Licht ($\lambda = 254$ nm) betrachtet.

5

Schmelzpunkte wurden auf einem Büchi 510 Schmelzpunktapparat nach to Dr. Tottoli bestimmt und sind unkorrigiert.

10

Alle ¹H-NMR und ¹³C-NMR Spektren wurden auf einem Bruker AC250 oder DMX500 Spektrometer bei 300 K aufgenommen, die Spektrendaten wurden auf Bruker Aspekt 1000 (AC 250) oder auf Silicon Graphics Indy-, O2- und Octane-workstations mit XWINNMR software prozessiert. Chemische Verschiebungen (δ) werden in parts per million (ppm) relativ zu Tetramethylsilan angegeben, Kopplungskonstanten werden in Hertz (Hz) angegeben. Als interner Standard wurde Tetramethylsilan oder der Lösungsmittelpeak verwendet: DMSO-d₆: 2.49 ppm (¹H-NMR) und 39.5 ppm (¹³C-NMR); CDCl₃: 7.24 ppm (¹H-NMR) und 77.0 ppm (¹³C-NMR). ¹³C-NMR Spektren wurden mit ¹H-Breitbandentkopplung aufgenommen. Die Signalzuordnung erfolgte in den meisten Fällen mit Hilfe von HMQC- und COSY-Experimenten.

15

20

25

30

Massenspektren wurden durch electron impact (EI)- und chemical ionisation (CI)-Technik auf einem Finnigan MAT 8200 Instrument aufgenommen. Electrospray ionisation (ESI)-Massenspektren wurden auf einem Finnigan LCQ Massenspektrometer in Kombination mit einem Hewlett Packard 1100 HPLC-System mit einer ODS-A C₁₈ (125 mm × 2 mm, 3 μ m, flow rate: 0.2 mL/min) Säule von Omnicrom YMC aufgenommen. Die Verbindungen wurden mit einem linearen Gradienten (15 min) von Acetonitril (Lösungsmittel B) in Wasser (Lösungsmittel A) und 0.1 % (v/v) Ameisensäure eluiert. Massenspektren werden in der Form "X (Y) [M+Z]⁺" angegeben, wobei "X" die detektierte Masse ist, "Y" die beobachtete Intensität des Massenpeaks, "M" das untersuchte Molekül und "Z" das angelagerte Kation.

Hochaufgelöste Massenspektren (HRMS) wurden von Koka Jajasimhulu, Ph.D. (University of Cincinnati, USA) unter Verwendung der electrospray ionisation-time of flight (ESI-TOF) Technik aufgenommen.

- 5 Lyophilisierung wurde mit dem Gerät Alpha 2-4 der Firma Christ (Osterode) durchgeführt.

AAV 1: Beladung von TCP-Harz

Zu vorgequollenem TCP-Harz (1.16 g, maximale Beladung: 0.9 mmol/g) in

10 trockenem CH₂Cl₂ (6 mL, 10 min.) werden die entsprechende Fmoc-

geschützte Aminosäure (1.56 mmol, 1.5eq) und DIPEA (177 µL, 1.03

mmol) zugegeben. Nach 5 min. wird weiteres DIPEA (91 µL, 0.52 mmol)

zugegeben und das Harz wird geschüttelt. Nach 2 Std. wird Methanol (1.16

mL) zum Cappen der nicht umgesetzten Tritylgruppen zugegeben und das

Harz wird für weitere 15 min. geschüttelt. Dann wird das Harz mit

15 trockenem CH₂Cl₂ (5 × 20 mL, je 3 min.), NMP (5 × 20 mL, je 3 min.) und

wieder mit trockenem CH₂Cl₂ (5 × 20 mL, je 3 min.) gewaschen schließlich

mit einer Mischung aus Methanol/CH₂Cl₂ (1:1, 20 ml) und Methanol (20

ml). Das Harz wird im Hochvakuum getrocknet, die Beladung lässt sich mit

folgender Gleichung bestimmen:

$$20 \quad l = \frac{(m_2 - m_1) \times 1000}{(MW - 36.45) \times m_2}$$

1 I Beladung des Harzes mit Baustein [mmol/g]

25 m₁ Gewicht des Harzes vor der Kupplung [g]

m₂ Gewicht des getrockneten Harzes nach der Kupplung [g]

MW Molekulargewicht der Fmoc-geschützten
Aminosäure/Carbonsäurebaustein [g/mol]

30 Der Fehler, der durch die unterschiedlichen Massen von Cl- und MeO- entsteht, ist dabei zu vernachlässigen.

AAV 2: Abspaltung der Fmoc-Schutzgruppe

Das Harz (100 mg) wird in NMP (5 mL, 10 min.) vorgequollen. Die Fmoc-

Schutzgruppe wird durch Behandlung mit einer frisch hergestellten 20 %

35 Piperidin-Lösung (v/v) in NMP (5 mL) für 15 min. abgespalten. Dann wird

das Harz mit NMP (5 × 5 mL, je 3 min.) gewaschen und erneut mit einer 20

- 34 -

% Piperidin-Lösung (v/v) in NMP (5 mL, 15 min.) versetzt. Schließlich wird das Harz mit NMP (5 × 5 mL, je 3 min.) gewaschen.

AAV 3: Kupplung von 5-(9H-Fluoren-9-ylmethoxy)-3H-[1,3,4]oxadiazol-2-on (142) an harzgebundene, freie Amine nach Gibson

Zur Entschützung des harzgebundenen Amins wird das TCP-Harz (100 mg, 0.354 mmol/g, 0.035 mmol) mit 20 % Piperidin (v/v) in NMP (2 × 5 mL, je 15 min.) versetzt. Dann wird das Harz mit NMP (5 × 5 mL, je 3 min.) trockenem CH₂Cl₂ (5 × 5 mL, je 3 min.) gewaschen und dann in trockenem CH₂Cl₂ (5 mL) eine halbe Stunde lang umgequollen. Dann wird das Harz mit einer Lösung von 5-(9H-Fluoren-9-ylmethoxy)-3H-[1,3,4]oxadiazol-2-on (142) (30.5 mg, 0.108 mmol, 3.1 eq) in trockenem CH₂Cl₂ (1 mL) versetzt und für 90 min. geschüttelt. Die Reaktion wird durch Waschen mit CH₂Cl₂ (5 × 5 mL, je 3 min.) und NMP (5 × 5 mL, je 3 min.) abgebrochen.

AAV 4: Kupplung mit HATU/HOAt

Das harzgebundene, freie Amin oder Hydrazin (0.389 mmol) wird mit NMP (5 × 5 mL, je 3 min) gewaschen. Dann wird das Harz mit einer Lösung der geeigneten Fmoc-geschützten Aminosäure oder eines

Carbonsäurebausteins (0.779 mmol, 2eq), HATU (296 mg, 0.779 mmol, 2eq) und HOAt (106 mg, 0.779 mmol, 2eq) in NMP (5 mL) versetzt. Zuletzt wird sym.-Collidin (1027 µL, 7.79 mmol, 20eq) zugegeben und das Harz wird über Nacht geschüttelt. Dann wird mit NMP (5 × 5 mL, je 3 min) gewaschen, und der Kupplungsschritt wird mit den gleichen Reagenzien, Mengen und Reaktionszeit wiederholt. Anschließend wird das Harz mit NMP (5 × 5 mL, je 3 min.) gewaschen.

AAV 5: Abspaltung vom TCP- Harz

Die Abspaltung der Verbindung vom TCP-Harz erfolgt nach folgendem

Fließschema:

Schritt	Reagenzien	Operation	Anzahl	Zeit [min]
1	CH ₂ Cl ₂	Waschen	3	10
2	TFA/TIPS/H ₂ O (18:1:1)	Abspalten/Entschützen	3	30
3	CH ₂ Cl ₂	Waschen	3	3

- 35 -

Für 100 mg Harz wurde üblicherweise 2 mL Abspaltlösung verwendet. Die vereinigten Filtrate der Schritte 2 und 3 wurden eingeengt.

5

10

15

20

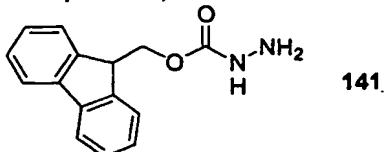
25

30

35

2. Beispiele

Beispiel 1a)

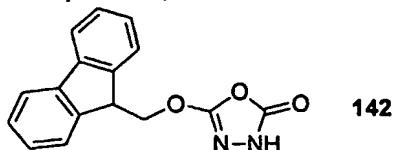


N-[(9H-Fluoren-9-ylmethoxy)carbonyl]-hydrazin (141)

Boc-Hydrazin (10.0 g, 75.6 mmol) und DIPEA (12.95 mL, 75.6 mmol) wurden in trockenem CH_2Cl_2 (200 mL) gelöst und auf 0 °C abgekühlt. Dann wurde FmocCl (19.6 g, 75.8 mmol), gelöst in trockenem CH_2Cl_2 (100 mL), innerhalb von 30 min. zugegeben und die Mischung wurde bei Raumtemperatur über Nacht gerührt. Die organische Phase wurde mit Wasser (200 mL) extrahiert und bis auf ein Volumen von etwa 100 mL eingeengt. Dann wurde vorsichtig bei 0 °C Trifluoressigsäure (100 mL) zugegeben und die Mischung wurde 1.5 Std. gerührt. Das Produkt wurde durch vorsichtige Zugabe von gesättigter Na_2CO_3 -Lösung (300 mL) ausgefällt, nach dem Trocknen erhielt man einen farblosen Feststoff (18.02 g, 70.8 mmol, 94 %).

20 Smp. 150-153 °C; $^1\text{H-NMR}$ (250 MHz, DMSO-d_6 , 300 K) δ = 10.10 (bs, 1H, NH), 9.60 (bs, 1H, NH), 7.89 (d, J = 7.6 Hz, 2H, arom), 7.70 (d, J = 7.3 Hz, 2H, arom), 7.30-7.45 (m, 4H, arom), 4.48 (d, J = 6.6 Hz, 2H, CO- CH_2), 4.27 (t, J = 6.7 Hz, 1H, CO- CH_2 -CH); $^{13}\text{C-NMR}$ (62.9 MHz, DMSO-d_6 , 300 K) δ = 156.26, 143.59, 140.98, 127.96, 127.34, 125.33, 120.39, 67.00, 46.60; HRMS (ESI-TOF) für $\text{C}_{15}\text{H}_{15}\text{N}_2\text{O}_2$ [$\text{M}+\text{H}]^+$: 255.1134 (ber. 255.1119); Analytische HPLC (5-90 % in 30 min) t_{R} = 16.47 min.

Beispiel 1b)



5-(9H-Fluoren-9-ylmethoxy)-3H-[1,3,4]oxadiazol-2-on (142)

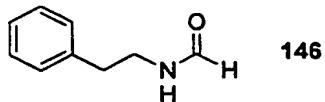
Eine Suspension von N-[(9H-fluoren-9-ylmethoxy) carbonyl]-hydrazin (141) (1.49 g, 5.78 mmol), CH_2Cl_2 (60 mL) und gesättigter NaHCO_3 -Lösung (60 mL) wurde 5 min. lang bei 0 °C heftig gerührt, dann beließ man die Lösung 5 min. lang ohne Rühren. Dann wurde Phosgen (1.89 M in Toluol, 7.95 mL,

15.0 mmol) mit einer Spritze vorsichtig zu der unteren, organischen Phase zugegeben und begann unmittelbar nach der Zugabe die Reaktionsmischung wieder zu Röhren. Nach 10 min. wurde das Reaktionsgemisch mit Wasser (20 mL) und CH₂Cl₂ (20 mL) versetzt.

5 Anschließend wurden die Phasen schnell getrennt, die wässrige Phase mit CH₂Cl₂ (50 mL) extrahiert und die vereinigten organischen Phasen über Na₂SO₄ getrocknet. Entfernen des Lösungsmittels im Vakuum und Trocknen ergaben einen farblosen Feststoff (1.35 g, 4.82 mmol, 83 %).

10 Smp. 125 °C; ¹H NMR (250 MHz, CDCl₃, 300 K) δ = 8.72 (bs, 1H, NH), 7.77 (d, J = 7.5 Hz, 2H, arom), 7.59 (d, J = 7.4 Hz, 2H, arom), 7.28-7.45 (m, 4H, arom), 4.49 (d, J = 7.8 Hz, 2H, CH₂-CH), 4.32-4.41 (m, 1H, CH₂-CH).

15 Beispiel 2a)

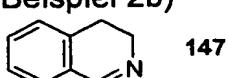


N-Phenylethylformamid (146)

20 Eine Mischung von Phenylethylamine (20.0 g, 0.165 mol) und Ameisensäure (49.4 ml, 1.309 mol) wurde langsam auf 200 °C erhitzt. Dabei destillierte man überschüssiges Wasser und Ameisensäure ab. Dann wurde die Mischung für 1 Std. bei 200 °C gehalten, nach Vakuumdestillation des Produkts erhielt man ein farbloses Öl (22.0 g, 0.147 mol, 89 %).

25 ¹H-NMR (250 MHz, DMSO-d₆, 300 K) δ = 8.06 (bs, 1H, CHO), 7.16-7.32 (m, 5H, arom), 3.32-3.42 (m, 2H, NH-CH₂), 2.77 (t, J = 7.2 Hz, 2H, NH-CH₂-CH₂); Analytische HPLC (5-90 % in 30 min) t_R = 15.04 min.

30 Beispiel 2b)



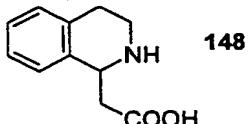
3,4-Dihydro-isoquinolin (147)

35 Polyphosphorsäure (25 g) und Phosphorpentaoxid (5.4 g, 38.0 mmol) wurden unter Argonatmosphäre in einem Ölbad innerhalb von einer Std. auf 180 °C erhitzt. Dann wurde N-Phenylethylformamid (146) (4.3 g, 28.8

mmol) bei 160 °C zugegeben und bei konstant gehaltener Temperatur 1.5 Std. gerührt. Dann ließ man die Mischung auf Raumtemperatur abkühlen und versetzte mit Wasser (40 mL). Anschließend wurde die Mischung durch vorsichtige Zugabe von gesättigter wässriger NaOH-Lösung auf pH 5 gebracht. Dann wurde mit Ether (500 mL) extrahiert, die organische Phase wurde abgetrennt und mit NaOH getrocknet. Nach dem Einengen erhielt man ein braunes Öl (2.81 g, 21.4 mmol, 74 %).

10 $^1\text{H-NMR}$ (250 MHz, DMSO-d₆, 300 K) δ = 8.32 (t, J = 2.3 Hz, 1H, N-CH), 7.16-7.40 (m, 4H, arom), 3.59-3.66 (m, 2H, N-CH₂), 2.66 (t, J = 7.3 Hz, 2H, N-CH₂-CH₂); Analytische HPLC (5-90 % in 30 min) t_R = 8.29 min.

Beispiel 2c)

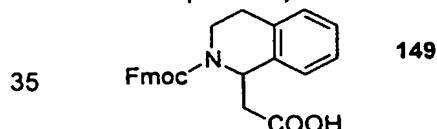


2-(1,2,3,4-Tetrahydro-1-isoquinolinyl)essigsäure (148)

20 3,4-Dihydro-isoquinolin (147) (2.2 g, 16.77 mmol) und Malonsäure (1.94 g, 16.77 mmol) wurden bei Raumtemperatur vermischt und in einem Ölbad auf 120 °C für 1 Std. erhitzt. Dann ließ man die Mischung auf Raumtemperatur abkühlen und kristallisierte aus Methanol (150 mL) um. Nach dem Trocknen erhielt man einen farblosen Feststoff (1.52 g, 7.99 mmol, 48 %).

25 Smp. 230 °C decomp; $^1\text{H-NMR}$ (250 MHz, D₂O, 300 K) δ = 7.13-7.23 (m, 4H, arom), 4.65 (t, J = 6.9 Hz, 1H, CH-NH), 3.44-3.54 (m, 1H, NH-CH₂), 3.24-3.34 (m, 1H, NH-CH₂), 2.95-3.03 (m, 2H, NH-CH₂-CH₂), 2.79 (d, J = 6.1 Hz, 2H, CH₂-COOH); HRMS (ESI-TOF) für C₁₁H₁₄NO₂ [M+H]⁺: 192.1047 (ber. 192.1025); Analytische HPLC (5-90 % in 30 min) t_R = 10.15 min.

30 Beispiel 2d)



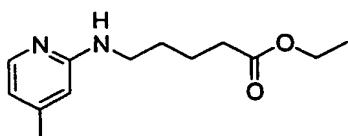
- 39 -

1-Carboxymethyl-3,4-dihydro-1H-isoquinoline-2-carboxylsäure-9H-fluoren-9-yl methylester (149)

Eine Suspension von 2-(1,2,3,4-Tetrahydro-1-isoquinolinyl)essigsäure (148) (0.9 g, 4.73 mmol), gesättigter NaHCO₃-Lösung (15 mL) und Dioxan (5 mL) wurde auf 0 °C abgekühlt. Dann wurde FmocCl (1.35 g, 5.2 mmol), gelöst in Dioxan (5 mL), tropfenweise innerhalb von 30 min. zugegeben und die Mischung über Nacht gerührt. Dann wurde mit Ether (30 mL) ausgeschüttelt und die wässrige Phase mit pH 1 with conc. HCl. Das Produkt wurde dann mit Essigsäureethylester (50 mL) extrahiert, die organische Phase wurde über MgSO₄ getrocknet und eingeengt. Das Rohprodukt wurde anschließend säulenchromatographisch gereinigt (Essigsäureethylester/Hexan/ Essigsäure, 1:1:1 %), nach dem Trocknen erhielt man einen farblosen Schaum (1.54 g, 3.73 mmol, 79 %).

Smp. 61-63 °C; DC R_f (Essigsäureethylester/Hexan/Essigsäure, 1:1:1 %) = 0.54; ¹H-NMR (250 MHz, DMSO-d₆, 300 K) δ = 7.79-7.91 (m, 2H, arom), 7.63-7.66 (m, 2H, arom), 7.05-7.39 (m, 8H, arom), 5.40-5.52 (m, 1H, NH-CH), 4.37-4.42 (m, 1H, COO-CH₂-CH), 4.25-4.32 (m, 2H, COO-CH₂), 3.62-4.02 (m, 1H, N-CH₂), 3.27-3.38 (m, 1H, N-CH₂), 2.52-2.76 (m, 4H, N-CH-CH₂ and N-CH₂-CH₂); MS (ESI) m/z 179.1 (30), 414.0 (20) [M+H]⁺; 436.2 (25) [M+Na]⁺, 492.8 (15), 826.7 (5) [2M+H]⁺, 849.1 (45) [2M+Na]⁺, 865.1 (100) [2M+K]⁺; HRMS (ESI-TOF) für C₂₆H₂₄NO₄ [M+H]⁺: 414.1721 (ber. 414.1705); Analytische HPLC (5-90 % in 30 min) t_R = 27.53 min.

Beispiel 3a)



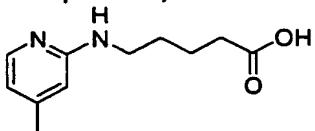
5-[N-(4-Methylpyridin-2-yl)-amino]- pentansäureethylester
 5-Brompentansäureethylester (33.03 g, 25 mL, 158 mmol) and 2-Amino-4-methylpyridin (32.9 g, 304 mmol) wurden über Nacht bei 130 °C (Ölbadtemperatur) unter Rückfluss erhitzt. Nach dem Abkühlen auf Raumtemperatur wurde gesättigte NaHCO₃-Lösung (100 mL) zur Reaktionsmischung gegeben, und mit Ether extrahiert (5 × 100 mL). Die

- 40 -

vereinigten organischen Phasen wurden über MgSO₄ getrocknet und das Lösungsmittel entfernt. Das Rohprodukt wurde mittels Flashchromatographie gereinigt (Essigsäureethylester/Hexan, 1:1, 2 L; 3:2, 1 L; 7:3, 1 L; 4:1, 1 L), nach dem Trocknen erhielt man einen farblosen
5 Feststoff (16.7 g, 70.7 mmol, 45 %).

Smp. 41-43 °C; DC R_f (Essigsäureethylester/Hexan, 1:1) = 0.26; ¹H-NMR (250 MHz, DMSO-d₆, 300 K) δ = 7.90 (d, J = 5.3 Hz, 1H, N-CH-CH), 6.38 (d, J = 5.2 Hz, 1H, N-C-CH), 6.17 (s, 1H, N-CH-CH), 4.51 (bs, 1H, NH),
10 4.11 (q, J = 7.2 Hz, 2H, O-CH₂-CH₃), 3.25 (q, J = 6.3 Hz, 2H, NH-CH₂), 2.33 (t, J = 7.0 Hz, 2H, CH₂-CO), 2.21 (s, 3H, C-CH₃), 1.60-1.80 (m, 4H, NH-CH₂-CH₂-CH₂), 1.23 (t, J = 7.0 Hz, 2H, O-CH₂-CH₃); Analytische HPLC (5-90 % in 30 min) t_R = 13.58 min.

15 Beispiel 3b)

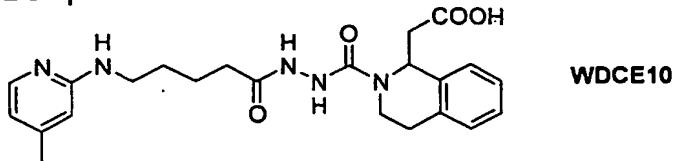


5-[N-(4-Methylpyridin-2-yl)-amino]-pentansäure
20 5-[N-(4-Methylpyridin-2-yl)-amino]-pentansäureethylester (16.7 g, 70.7 mmol, erhältlich nach Beispiel 3a)) wurde in Methanol gelöst (20 mL), mit 2N wässriger NaOH (71 mL, 141 mmol) versetzt und bei Raumtemperatur über Nacht gerührt. Dann wurde das Lösungsmittel entfernt und der erhaltene Feststoff mit CHCl₃ (500 ml) und einem Überschuss an DIPEA gründlich extrahiert. Das Filtrat wurde eingeengt, nach dem Trocknen erhielt man einen farblosen Feststoff (3.92 g, 18.8 mmol, 27 %).

Smp. 138-140 °C; ¹H-NMR (250 MHz, DMSO-d₆, 300 K) δ = 7.79 (d, J=5.2 Hz, 1H, NH), 6.26-6.30 (m, 2H, arom. C⁵-H and C⁶-H), 6.22 (s, 1H, arom. C³-H), 3.17 (dt, J=5.8 Hz, 2H, NH-CH₂), 2.21 (t, J=7.0 Hz, 2H, CH₂-CH₂-CO), 2.11 (s, 3H, C^{quart}-CH₃), 1.41-1.58 (m, 4H, CH₂-CH₂-CH₂-CH₂); ¹³C-NMR (67.5 MHz, DMSO-d₆, 300 K) δ = 174.6 (COOH), 159.3, 147.3, 146.8, 113.1, 107.9, 40.5, 33.7, 28.8, 22.4, 20.8; HRMS (ESI-TOF) für C₁₁H₁₇N₂O₂ [M+H]⁺: 209.1293 (ber. 209.1290); Analytische HPLC (5-90 % in 30 min) t_R = 9.83 min.

- 41 -

Beispiel 4

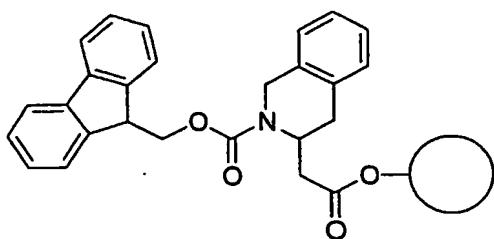


5 TCP-Harz wurde mit 1-Carboxymethyl-3,4-dihydro-1H-isoquinoline-2-carboxylsäure-9H-fluoren-9-ylmethylester (149 aus Beispiel 2d)) (0.48 g, 1.16 mmol) gemäß AAV 1 beladen ($m_1 = 0.84$ g, $m_2 = 1.0$ g, $I = 0.426$ mmol/g). Fmoc-Entschützung und Kupplung des frisch hergestellten 5-(9H-Fluoren-9-ylmethoxy)-3H-[1,3,4]oxadiazol-2-on (142 aus Beispiel 1b)) (385 mg, 1.32 mmol) wurden gemäß AAV 2 und 3, Kupplung von 5-[N-(4-Methylpyridin-2-yl)-amino]-pentansäure (177 mg, 0.852 mmol) gemäß AAV 4, Abspaltung vom Harz wurde gemäß AAV 5 durchgeführt. Nach HPLC-Reinigung (10-80 % in 30 min) und Lyophilisieren wurde ein farbloses Pulver erhalten (3.0 mg, 0.00542 mmol, 1.3 %).

10
15
20
25
30
Smp. 103-109 °C; $^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, DMSO- d_6 , 300 K) $\delta = 8.81$ (bs, 1H, NH-NH), 8.44 (bs, 1H, NH-NH), 8.25 (d, $J = 6.5$ Hz, 1H, N-CH-CH), 7.74-7.77 (m, 4H, arom), 7.34 (s, 1H, N-C-CH), 7.21 (d, $J = 6.4$ Hz, 1H, N-CH-CH), 6.06-6.07 (m, 1H, N-CH), 4.46-4.52 (m, 1H, CH-CH₂), 3.82-3.93 (m, 3H, NH-CH₂ and CH-CH₂), 3.47-3.57 (m, 2H, NCH₂CH₂), 3.30-3.40 (m, 2H, NCH₂CH₂), 2.94 (s, 3H, C-CH₃), 2.79-2.84 (m, 2H, CH₂-CO), 2.23-2.35 (m, 4H, NH-CH₂-CH₂-CH₂); MS (ESI) m/z 191.2 (8), 249.1 (100), 440.1 (30) [M+H]⁺, 462.1 (8) [M+Na]⁺, 478.1 (10) [M+K]⁺, 901.0 (2) [2M+Na]⁺, 917.1 (3) [2M+K]⁺, 939.1 (4) [2M-H+Na+K]⁺, 945.1 (4); HRMS für C₂₃H₃₀N₅O₄ [M+H]⁺ 440.2273 (ber. 440.2298); Analytische HPLC (5-90 % in 30 min) t_R = 14.69 min (92.7 % Reinheit bei 220 nm)

30 Beispiel 5a)

35



- 42 -

A

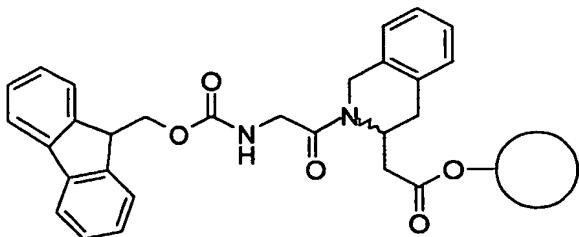
Harzgebundene Fmoc-1,2,3,4-tetrahydroisoquinolin-3(S)-yl-essigsäure

200 mg Tritylchloridpolystyrol-Harz (0.18 mmol theoretische Beladung)

5 wird in 1.5 ml abs DCM gewaschen. Anschließend wird das Harz mit einer Lösung aus 0.24 mmol Fmoc-1,2,3,4-tetrahydroisoquinolin-3(S)-yl-essigsäure und 0.6 mmol DIPEA in 1.5 ml abs DCM verstezt, 1.5 Stunden bei Raumtemperatur geschüttelt und danach 0.2 ml Methanol zugegeben. Man wäscht mit DCM (5 x 1.5 ml) und Methanol (3 x 1.5 ml) und trocknet.

10

Beispiel 5b)



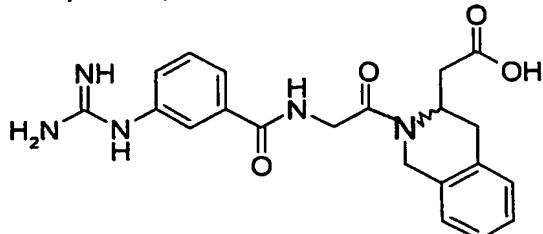
B

20 Harzgebundene Fmoc-Gly-1,2,3,4-tetrahydroisochinolin-3-yl-essigsäure

0.072 mmol A werden mit DMF (1 x 2 ml) gewaschen. Anschliessend zweimal mit 20% Piperidin in DMF (2 x 2 ml) zuerst 5 min dann nach 15 min entschützt und mit DMF (6 x 2 ml) gewaschen. Das harzgebundene freie Amin wird mit einer ca. 0.1M Lösung aus 2.5 Äquiv. (bezogen auf die Harzbelegung, 0.18 mmol) Fmoc-Glycin, 2.4 Äquiv. (0.17 mmol) HATU und 30 Äquiv. (2.16 mmol) sym-Collidin in trockenem DMF versetzt und 90 min bei Raumtemperatur geschüttelt. Die Reaktion wird durch Waschen in DMF (6 x 2 ml) beendet.

25

Beispiel 5c)



3-Guanidinobenzoyl-glycyl-1,2,3,4-tetrahydroisoquinolin-3-yl-essigsäure
0.036 mmol B werden mit DMF (1 x 1 ml) gewaschen. Anschliessend
zweimal mit 20% Piperidin in DMF (2 x 1 ml) zuerst 5 min dannach 15 min
5 entschützt und mit DMF (6 x 1 ml) gewaschen. Das harzgebundene freie
Amin wird mit einer ca. 0.1M Lösung aus 2.5 Äquiv. (bezogen auf die
Harzbelegung, 0.09 mmol) Fmoc-3-aminobenzoësäure, 2.4 Äquiv. (0.086)
HATU und 30 Äquiv. (1.08) sym-Collidin in trockenem DMF versetzt und 90
min bei Raumtemperatur geschüttelt. Man wäscht mit DMF (6 x 1 ml) und
10 entschützt wie beschrieben.

Das Harz wird anschliessend mit wasserfreiem Chloroform (3 x 1 ml)
gewaschen und mit einer Lösung aus 0.36 mmol N,N'-bis-BOC-1-
guanylpyrazol in 0.4 ml wasserfreiem Chloroform versetzt und bei 50°C in
einem beheizbaren Schüttler umgesetzt. Nach 20 Stunden wird das Harz
15 mit DCM (6 x 1 ml) gewaschen.

Zur Abspaltung vom Harz mit gleichzeitiger BOC-Abspaltung wird das Harz
mit einem 4.75:4.75:0.5-Gemisch aus DCM, TFA und TIPS (3 x 1 ml)
einmal 1.5 Stunden, einmal 30 min und einmal 3 min geschüttelt und
abfiltriert. Die vereinigten Filtrate werden eingeengt, und der Rückstand
20 aus tertButanol/Wasser lyophilisiert. Die Reinigung mit präparativer HPLC
ergibt 3-Guanidinobenzoyl-glycyl-1,2,3,4-tetrahydroisoquinolin-3-yl-
essigsäure, Trifluoracetat.

RT = 12.3 (10→90%ACN, 30 min)

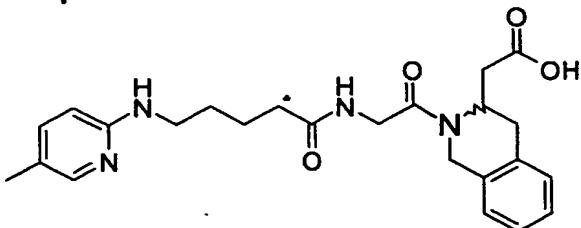
MS (ESI): m/z = 410.2 ([M+H]⁺).

25 ¹H-NMR (1.3:1 Verhältnis der Rotationsisomere, * kleinere
Rotationsisomer-Signale, 500 MHz, DMSO-d₆) δ = 12.39 (br. s, 1H,
COOH), 9.95 (s, 1H, NH-^{Ar}C), 8.67 (t, J = 5.4 Hz, 1H, NH-^{Gly}CH₂), 8.63* (t,
J = 5.4 Hz, 1H, NH-^{Gly}CH₂), 7.78 (d, J = 7.8 Hz, 1H, ^{Ar}C⁶-H), 7.72 (s, 1H,
^{Ar}C²-H), 7.58 (s, 4H, ^{Gua}N₂H₄), 7.53 (t, J = 7.8 Hz, 1H, ^{Ar}C⁵-H), 7.39 (d, J =
7.8 Hz, 1H, ^{Ar}C⁴-H), 7.17-7.25 (m, 4H, ^{Thiqu}C^{5,6,7,8}-H), 5.11 (d, J = 17.9 Hz,
1H, ^{Thiqu}C¹-H₂), 5.01-5.02* (m, 1H, ^{Thiqu}C³-H), 4.82* (d, J = 16.2 Hz, 1H,
^{Thiqu}C¹-H₂), 4.73-4.75 (m, 1H, ^{Thiqu}C³-H), 4.55* (d, J = 16.2 Hz, 1H, ^{Thiqu}C¹-
H₂), 4.44 (dd, J = 16.4 Hz, J = 5.4 Hz, 1H, ^{Gly}CH₂), 4.19-4.29 (m, 3H,
^{Gly}CH₂), 4.10 (d, J = 17.9 Hz, 1H, ^{Thiqu}C¹-H₂), 3.15 (dd, J = 16.4 Hz, J = 5.0
Hz, 1H CH₂CO₂H), 2.98* (dd, J = 15.8 Hz, J = 5.2 Hz, 1H, CH₂CO₂H),

2.74-2.79 (m, 2H, $\text{CH}_2\text{CO}_2\text{H}$), 2.41-2.51, 2.33-2.37, 2.16-2.21 (m, 4H,
 $\text{Thiqu}^{\text{C}}{}^4\text{-H}_2$).

5 **Beispiel 6**

10



5-**(4-Methylpyridin-2-ylamino)-pentanoyl-glycyl-1,2,3,4-tetrahydroisoquinolin-3-yl-essigsäure**

15 0.036 mmol **B** (erhältlich nach Beispiel 5b)) werden mit DMF (1 x 1 ml) gewaschen. Anschliessend zweimal mit 20% Piperidin in DMF (2 x 1 ml) zuerst 5 min dannach 15 min entschützt und mit DMF (6 x 1 ml) gewaschen. Das harzgebundene freie Amin wird mit einer ca. 0.1M Lösung aus 2.5 Äquiv. (0.09 mmol) 5-(N-(4-Methylpyridin-2-yl)-amino-pentansäure, 2.4 Äquiv. (0.086 mmol) HATU und 30 Äquiv. (1.08 mmol) Collidin in absolutem DMF über Nacht bei Raumtemperatur geschüttelt. Man wäscht mit DMF und DCM. Zur Abspaltung von der festen Phase schüttelt man das gewaschene Harz mit 1 ml eines Gemisches aus DCM/Trifluorethan/Essigsäure (31/1) zunächst 90 min, danach 30 min und abschliessend 1 min. Entfernen des Lösungsmittels und Reinigung mit präparativer HPLC ergibt 5-(4-Methylpyridin-2-ylamino)-pentanoyl-glycyl-1,2,3,4-tetrahydroisoquinolin-3-yl-essigsäure, Trifluoracetat.

20 RT = 13,3 (10→90%ACN, 30 min)

25 MS (ESI): m/z = 439.3 ([M+H]⁺).

30 ¹H-NMR (1.3:1 Verhältnis der Rotationsisomere, * kleinere Rotationsisomer-Signale, 500 MHz, DMSO-d₆) δ = 12.35 (br. s, 1H, COOH), 8.46 (br. s, 1H, NH-CH₂), 7.93-7.97 (m, 1H, NH-GlyCH₂), 7.78 (d, J = 6.5 Hz, 1H, PyrC⁶-H), 7.14-7.22 (m, 4H, ThiquC^{5,6,7,8}-H), 6.81 (s, 1H, PyrC³-H), 6.69 (d, J = 6.5 Hz, 1H, PyrC⁵-H), 5.08 (d, J = 17.9 Hz, 1H, ThiquC¹-H₂), 4.97-5.01* (m, 1H, ThiquC³-H), 4.71* (d, J = 16.2 Hz, 1H, ThiquC¹-H₂), 4.59-4.63 (m, 1H, ThiquC³-H), 4.47* (d, J = 16.2 Hz, 1H, ThiquC¹-H₂), 4.21 (dd, J =

16.7 Hz, J = 5.5 Hz, 1H, ^{Gly}CH₂), 4.04-4.08 (m, 3H, ^{Gly}CH₂, ^{Thiqui}C¹-H₂),
3.97* (dd, J = 16.9 Hz, J = 5.4 Hz, 1H, ^{Gly}CH₂), 3.27 (m, 2H, NH-CH₂), 3.11
(dd, J = 16.2 Hz, J = 5.3 Hz, 1H, CH₂CO₂H), 2.95* (dd, J = 15.7 Hz, J = 5.4
Hz, 1H, CH₂CO₂H), 2.62-2.77 (m, 2H, CH₂CO₂H), 2.34-2.44 (m, 3H,
5 ^{Thiqui}C⁴-H₂) 2.31 (s, 3H, CH₃), 2.12-2.21 (m, 3H, ^{Thiqui}C⁴-H₄, CH₂-CH₂-CO),
1.58 (s, 4H, (CH₂)₂-CH₂-CO).

Analog lassen sich unter Verwendung der entsprechenden Vorstufen die
weiteren Verbindungen der Formel I, insbesondere die Verbindungen der
10 Formeln I1 bis I36 erhalten.

Die nachfolgenden Beispiele betreffen pharmazeutische Zubereitungen:

Beispiel A: Injektionsgläser

15 Eine Lösung von 100 g eines Wirkstoffes der Formel I und 5 g Dinatriumhydrogenphosphat wird in 3 l zweifach destilliertem Wasser mit 2 n Salzsäure auf pH 6,5 eingestellt, steril filtriert, in Injektionsgläser abgefüllt,
unter sterilen Bedingungen lyophilisiert und steril verschlossen. Jedes In-
20 jektionsglas enthält 5 mg Wirkstoff.

Beispiel B: Suppositorien

25 Man schmilzt ein Gemisch von 20 g eines Wirkstoffes der Formel I mit
100 g Sojalecithin und 1400 g Kakaobutter, gießt in Formen und lässt
erkalten. Jedes Suppositorium enthält 20 mg Wirkstoff.

Beispiel C: Lösung

30 Man bereitet eine Lösung aus 1 g eines Wirkstoffes der Formel I, 9,38 g
NaH₂PO₄ · 2 H₂O, 28,48 g Na₂HPO₄ · 12 H₂O und 0,1 g Benzalkoniumchlorid in 940 ml zweifach destilliertem Wasser. Man stellt auf pH 6,8 ein,
füllt auf 1 l auf und sterilisiert durch Bestrahlung. Diese Lösung kann in
Form von Augentropfen verwendet werden.

35

Beispiel D: Salbe

- 46 -

Man mischt 500 mg eines Wirkstoffes der Formel I mit 99,5 g Vaseline unter aseptischen Bedingungen.

5 **Beispiel E: Tabletten**

Ein Gemisch von 1 kg Wirkstoff der Formel I, 4 kg Lactose, 1,2 kg Kartoffelstärke, 0,2 kg Talk und 0,1 kg Magnesiumstearat wird in üblicher Weise zu Tabletten verpreßt, derart, daß jede Tablette 10 mg Wirkstoff
10 enthält.

Beispiel F: Dragees

Analog Beispiel E werden Tabletten gepreßt, die anschließend in üblicher Weise mit einem Überzug aus Saccharose, Kartoffelstärke, Talk, Tragant und Farbstoff überzogen werden.

Beispiel G: Kapseln

20 2 kg Wirkstoff der Formel I werden in üblicher Weise in Hartgelatinekapseln gefüllt, so daß jede Kapsel 20 mg des Wirkstoffs enthält.

Beispiel H: Ampullen

25 Eine Lösung von 1 kg Wirkstoff der Formel I in 60 l zweifach destilliertem Wasser wird steril filtriert, in Ampullen abgefüllt, unter sterilen Bedingungen lyophilisiert und steril verschlossen. Jede Ampulle enthält 10 mg Wirkstoff.

- 47 -

Beispiel I: Inhalations-Spray

Man löst 14 g Wirkstoff der Formel I in 10 l isotonischer NaCl-Lösung und füllt die Lösung in handelsübliche Sprühgefäße mit Pump-Mechanismus.

- 5 Die Lösung kann in Mund oder Nase gesprüht werden. Ein Sprühstoß (etwa 0,1 ml) entspricht einer Dosis von etwa 0,14 mg.

10

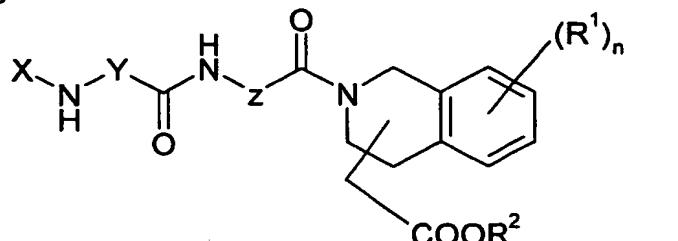
15

20

25

30

35

Patentansprüche**1. Verbindungen der Formel I**

10 worin

X H, -C(=NR³)-NHR⁴ oder Het,

15 Y -(CH₂)_m- or -(CH₂)_m- or -(CH₂)_m- (R⁵)_p

Z NH oder CH₂,

R¹, R⁵ jeweils unabhängig voneinander H, A, OH, OA, Arylalkyl, Hal,
 20 -CO-A, CN, NO₂, NHR³, COOA, COOH, SO₂A, CF₃ oder
 OCF₃,

R² jeweils unabhängig voneinander H oder A,

25 R³, R⁴ jeweils unabhängig voneinander H, A, -CO-A, NO₂ oder CN,

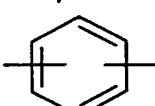
A Alkyl mit 1-6 C-Atomen,

m 0, 1, 2, 3, 4, 5 oder 6,

30 n, p unabhängig voneinander 1, 2 oder 3
 bedeuten,

sowie ihre physiologisch unbedenklichen Derivate, insbesondere
 35 deren Salze und Solvate.

- 49 -

2. Verbindungen der Formel I nach Anspruch 1, worin A Methyl,
weiterhin Ethyl, Isopropyl, n-Propyl, n-Butyl, Isobutyl, sek.-Butyl oder
tert.-Butyl bedeutet.
- 5 3. Verbindungen der Formel I nach einem oder mehreren der
Ansprüche 1 oder 2, worin Het 4-Methylpyridin-2-yl, Pyridin-2-yl,
Pyriminin-2-yl, Imidazol-2-yl, Benzimidazol-2-yl und deren hydrierte
Derivate bedeutet.
- 10 4. Verbindungen der Formel I nach einem oder mehreren der
Ansprüche 1 bis 3, dadurch gekennzeichnet, daß R¹ und R⁵
unabhängig voneinander vorzugsweise H, A, CN, NO₂, Hal oder –
COA- bedeuten.
- 15 5. Verbindungen der Formel I nach einem oder mehreren der
Ansprüche 1 bis 3, dadurch gekennzeichnet, daß R² vorzugsweise H
oder A bedeutet.
- 20 6. Verbindungen der Formel I nach einem oder mehreren der
Ansprüche 1 bis 3, dadurch gekennzeichnet, daß R³ und R⁴
unabhängig voneinander bedeutet vorzugsweise H oder –COA-
bedeuten.
- 25 7. Verbindungen der Formel I nach einem oder mehreren der
Ansprüche 1 bis 3, dadurch gekennzeichnet, daß X H, -C(=NH)-NH₂,
-C(=NMethyl)-NH₂, 4-Methylpyridin-2-yl, Pyridin-2-yl, Pyrimidin-2-yl,
Imidazol-2-yl, Benzimidazol-2-yl und deren hydrierte Derivate
bedeutet.
- 30 8. Verbindungen der Formel I nach einem oder mehreren der
Ansprüche 1 bis 3, dadurch gekennzeichnet, daß Y -(CH₂)_m- oder

bedeutet.

- 50 -

9. Verbindungen der Formel I nach einem oder mehreren der Ansprüche 1 bis 3, dadurch gekennzeichnet, daß n und p unabhängig voneinander 1 oder 2 bedeuten.

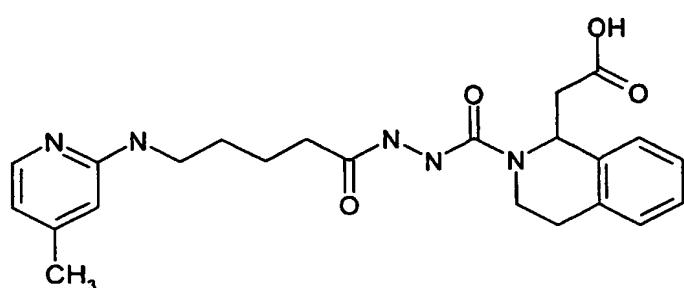
5 10. Verbindungen der Formel I nach einem oder mehreren der Ansprüche 1 bis 3, dadurch gekennzeichnet, daß m 0, 2 oder 4 bedeutet.

11. Verbindungen der Formel I1 bis I36:

10

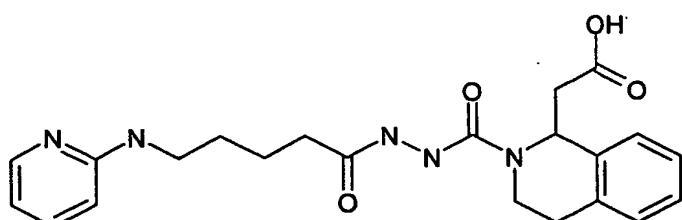
I1

15



20

I2



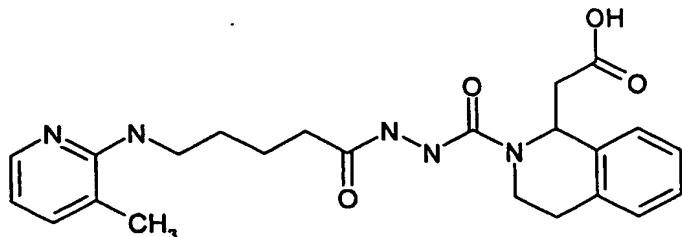
25

I3

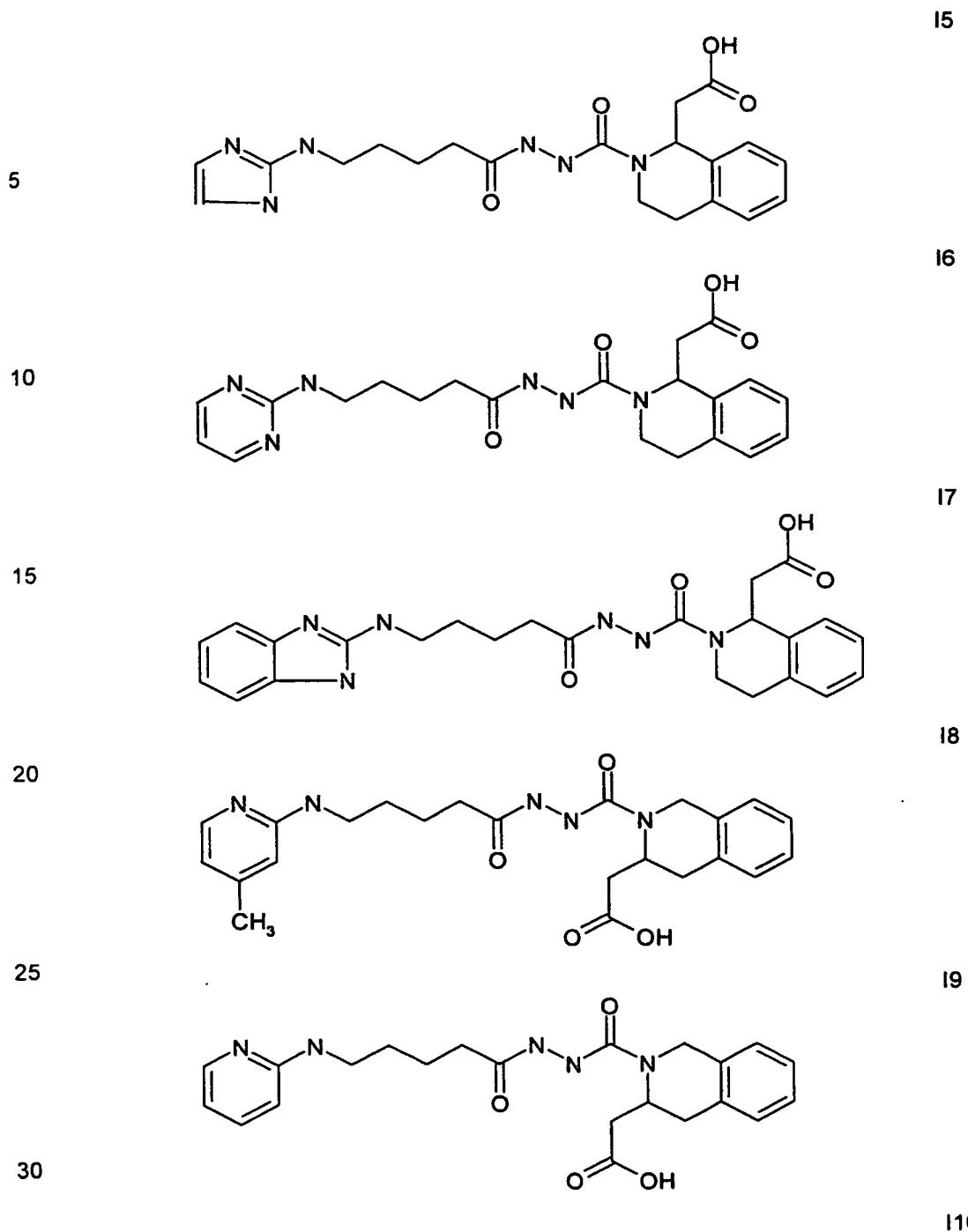
30

I4

35

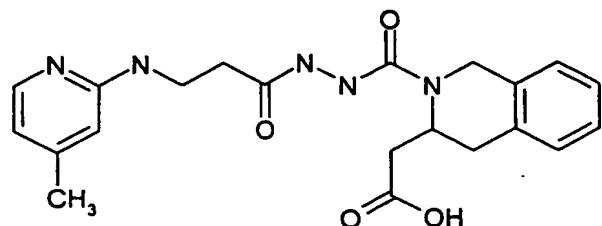


- 51 -

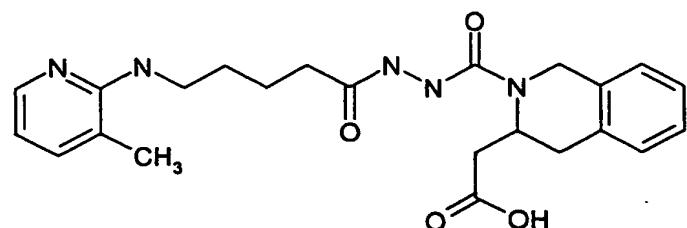


I10

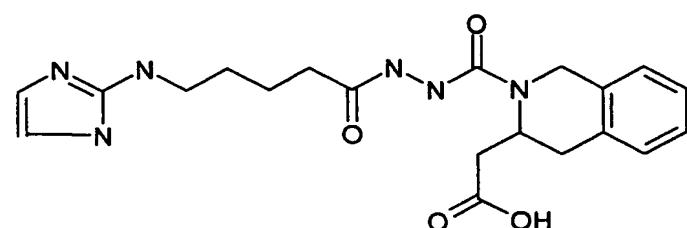
- 52 -



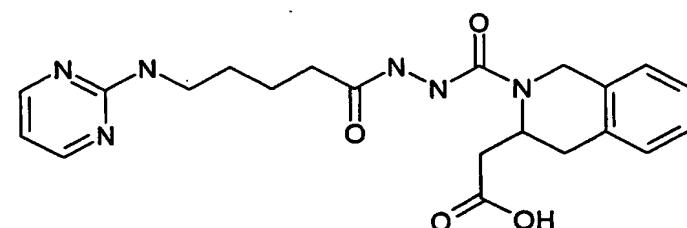
I11



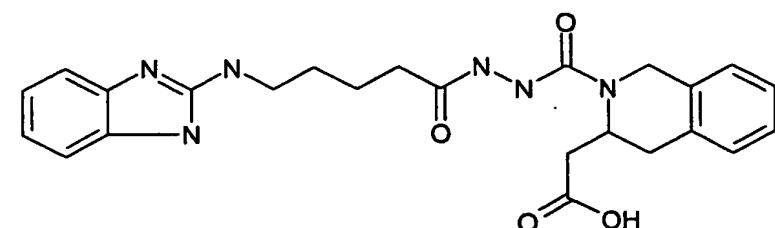
I12



I13

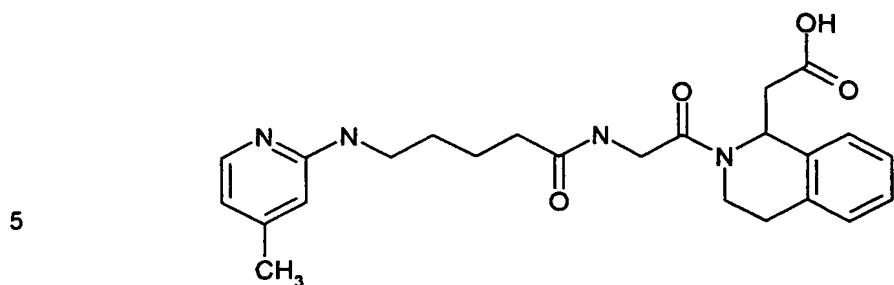


I14

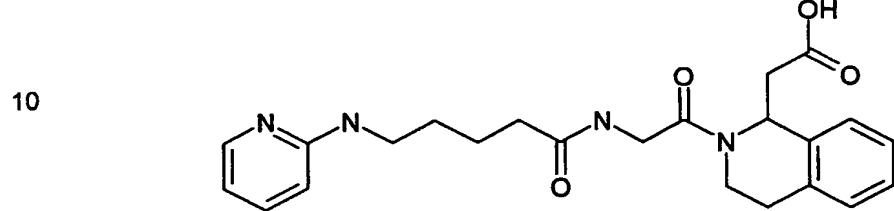


I15

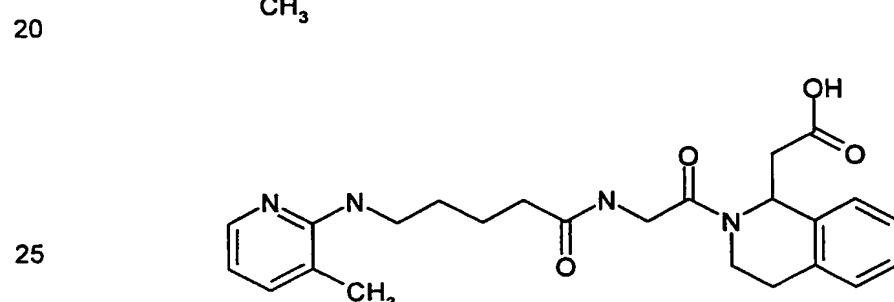
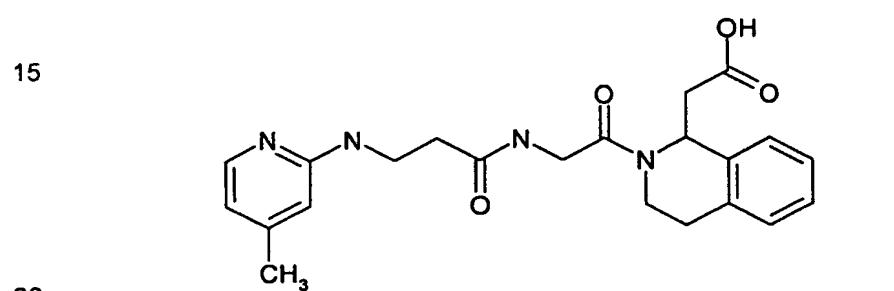
- 53 -



|16



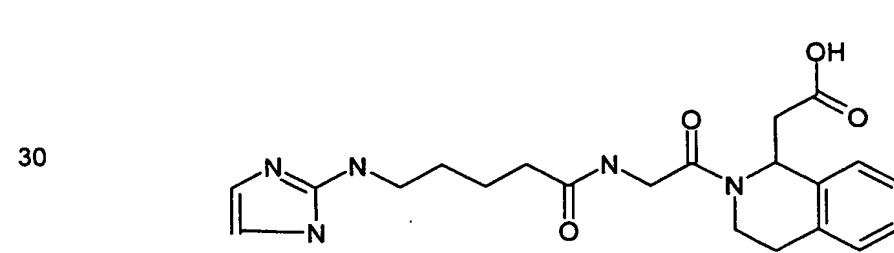
|17



|18

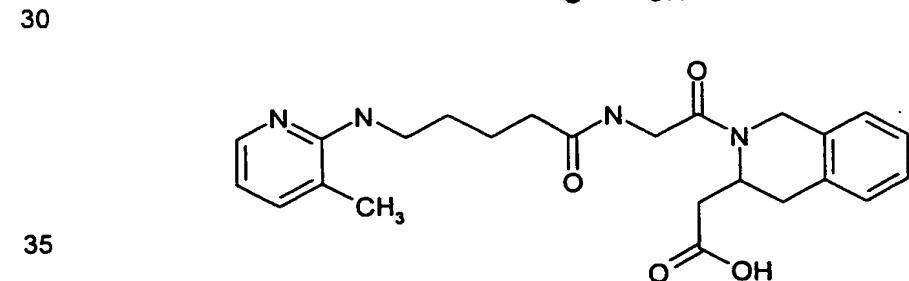
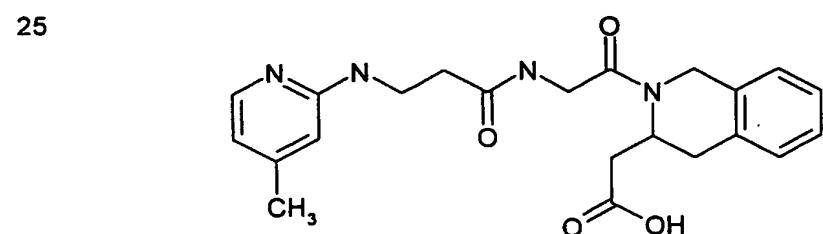
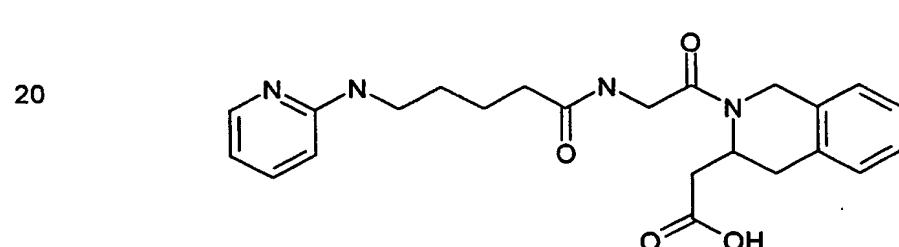
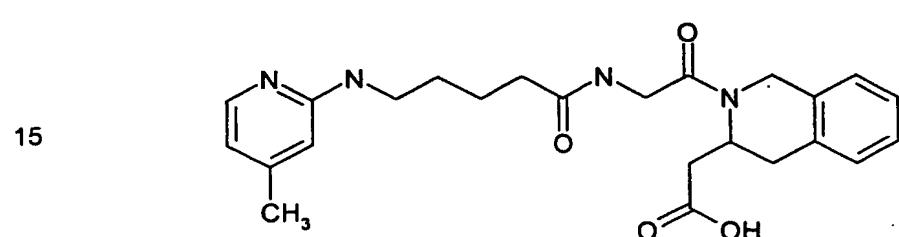
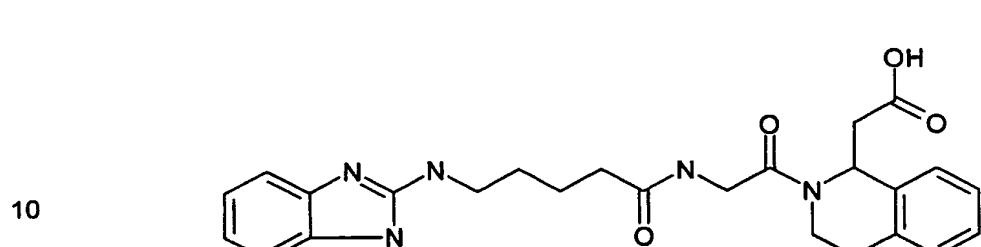
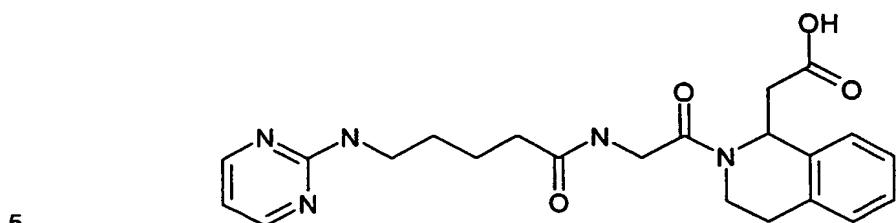


|19



|20

- 54 -



I21

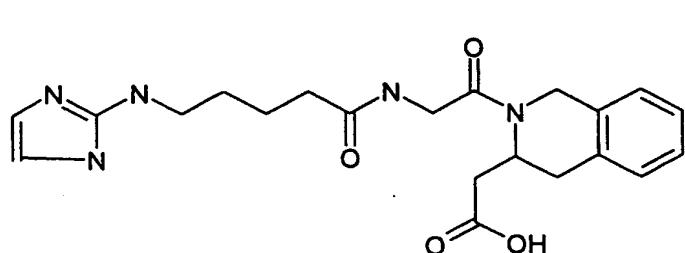
I22

I23

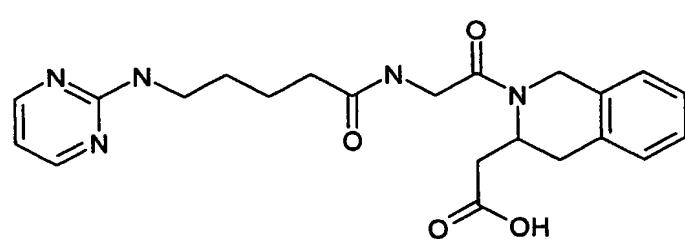
I24

I25

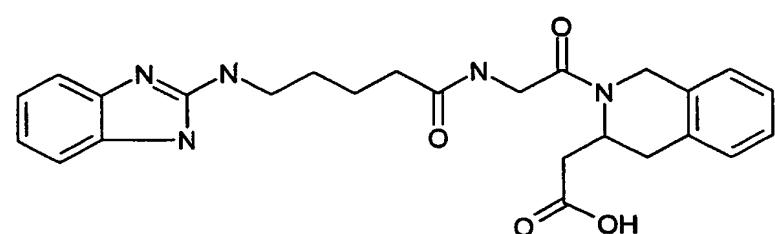
- 55 -



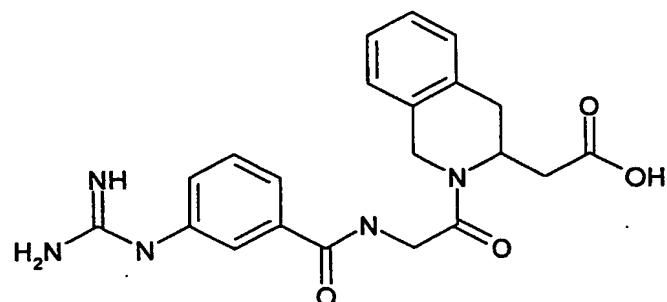
5



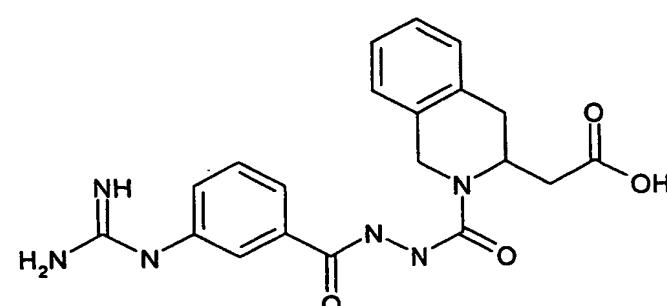
10



15



20



35

126

127

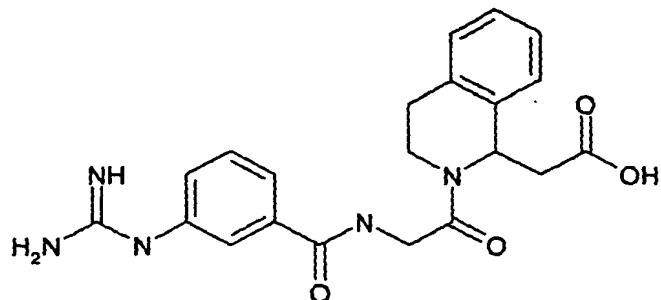
128

129

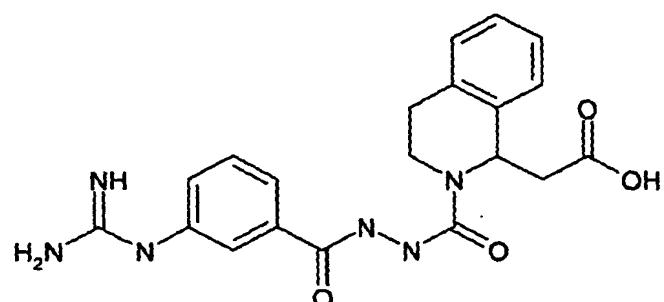
130

131

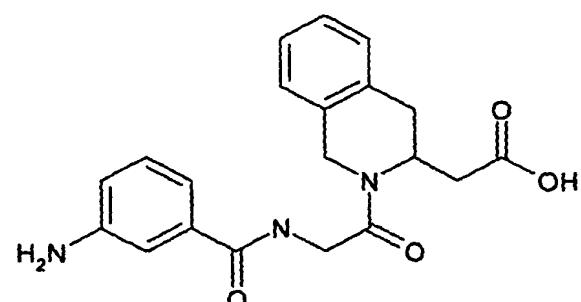
- 56 -



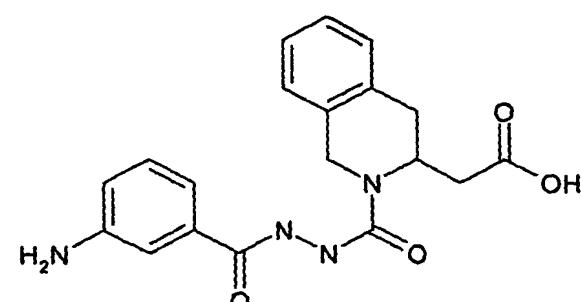
I32



I33



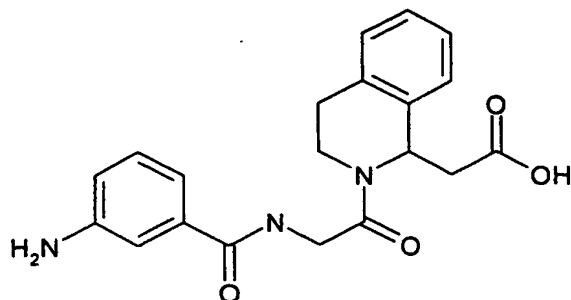
I34



I35

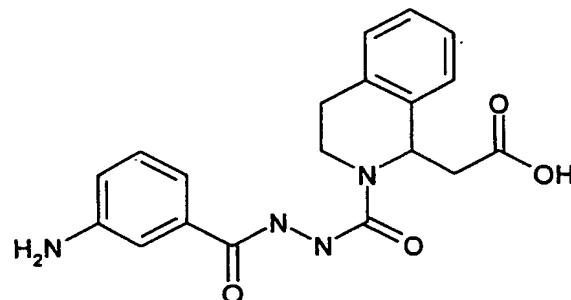
- 57 -

5



I36

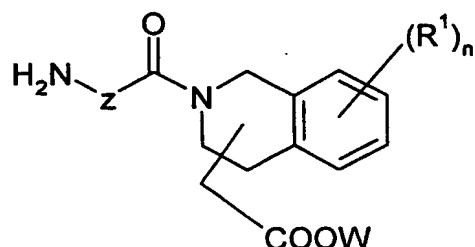
10



15

12. Verfahren zur Herstellung von Verbindungen der Formel I nach einem oder mehreren der Ansprüche 1 bis 11 sowie ihrer Salze, dadurch gekennzeichnet, daß man
20 a) eine Verbindung der Formel II,

25



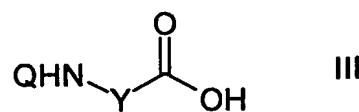
II

30

worin Z, R¹ und n die oben angegebene Bedeutung aufweisen und W eine übliche Schutzgruppe oder eine in der Peptidchemie verwendete feste Phase bedeutet,

mit einer Verbindung der Formel III

35



III

worin Y die oben angegebene Bedeutungen aufweist und Q eine geeignete Schutzgruppe oder Het bedeutet, in Gegenwart eines Kondensationsmittels wie z.B. HATU umsetzt,

5

und anschließend die Schutzgruppen und/oder die feste Phase entfernt,

10

und das erhaltene Produkt gegebenenfalls, sofern Q als Schutzgruppe abgespalten wird, mit einer geeigneten Guanylverbindung, wie z.B. N, N'-bis-BOC-1-Guanylpyrazol umgesetzt und gegebenenfalls die verbliebenen Schutzgruppen und/oder die festen Phase abgespaltet

15

oder

b) eine Verbindung der Formel I aus einem ihrer funktionellen Derivate durch Behandeln mit einem solvolysierenden oder hydrogenolysierenden Mittel in Freiheit setzt,

20

und/oder daß man eine basische oder saure Verbindung der Formel I durch Behandeln mit einer Säure oder Base in eines ihrer Salze überführt.

25

13. Verbindungen der Formel I nach einem oder mehreren der Ansprüche 1 bis 11 und ihre physiologisch unbedenklichen Salze oder Solvate als therapeutische Wirkstoffe.

30

14. Verbindungen der Formel I nach einem oder mehreren der Ansprüche 1 bis 11 und ihre physiologisch unbedenklichen Salze oder Solvate als Integrinhibitoren.

35

15. Verbindungen der Formel I nach einem oder mehreren der Ansprüche 1 bis 11 und ihre physiologisch unbedenklichen Salze oder Solvate zur Anwendung bei der Bekämpfung von Krankheiten.

- 59 -

16. Pharmazeutische Zubereitung gekennzeichnet durch einen Gehalt an mindestens einer Verbindung der Formel I nach einem oder mehreren der Ansprüche 1 bis 11 und/oder einem ihrer physiologisch unbedenklichen Salze oder Solvate.

5

17. Verwendung von Verbindungen der Formel I nach einem oder mehreren der Ansprüche 1 bis 11 und/oder ihre physiologisch unbedenklichen Salze oder Solvate zur Herstellung einer pharmazeutischen Zubereitung.

10

18. Verwendung von Verbindungen der Formel I nach einem oder mehreren der Ansprüche 1 bis 11 und/oder ihrer physiologisch unbedenklichen Salze oder Solvate zur Herstellung einer pharmazeutischen Zubereitung zur Bekämpfung von Thrombosen, Herzinfarkt, koronaren Herzerkrankungen, Arteriosklerose, Entzündungen, Tumoren, Osteoporose, Infektionen und Restenose nach Angioplastie.

15

19. Verwendung von Verbindungen der Formel I nach einem oder mehreren der Ansprüche 1 bis 11 und/oder ihre physiologisch unbedenklichen Salze oder Solvate bei pathologischen Vorgängen, die durch Angiogenese unterhalten oder propagiert werden.

25

30

35

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No
PCT/EP 03/01248

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
 IPC 7 C07D401/12 C07D403/12 C07D217/12 A61K31/47 A61P35/04

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)
 IPC 7 C07D

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used)

EPO-Internal, CHEM ABS Data, BEILSTEIN Data

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	WO 01 05753 A (HOLZEMANN GUENTER ;MERCK PATENT GMBH (DE); GOODMAN SIMON (DE); KES) 25 January 2001 (2001-01-25) claims; examples ----	1-19
A	WO 99 11658 A (JONES STUART DONALD ;MORGAN PHILLIP JOHN (GB); RIMMER ANDREW DAVID) 11 March 1999 (1999-03-11) claims; examples 162,164 ----	1-19
A	WO 00 76971 A (JONES STUART DONALD ;LYONS AMANDA JANE (GB); MORGAN PHILLIP JOHN ()) 21 December 2000 (2000-12-21) claims; example 149 -----	1-19

Further documents are listed in the continuation of box C.

Patent family members are listed in annex.

* Special categories of cited documents :

- *A* document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
- *E* earlier document but published on or after the International filing date
- *L* document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
- *O* document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
- *P* document published prior to the International filing date but later than the priority date claimed

T later document published after the International filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

X document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

Y document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art.

8 document member of the same patent family

Date of the actual completion of the International search

2 June 2003

Date of mailing of the international search report

10/06/2003

Name and mailing address of the ISA

European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl.
Fax: (+31-70) 340-3018

Authorized officer

Menegaki, F

EP03/01248

Although Claims 18 and 19 relate to a method for treatment of the human or animal body, the search was carried out on the basis of the alleged effects of the compound or composition.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International Application No PCT/EP 03/01248

Patent document cited in search report	Publication date		Patent family member(s)	Publication date
WO 0105753	A 25-01-2001	DE AU BR CA CN CZ WO EP HU JP NO SK	19932796 A1 6155100 A 0012391 A 2379041 A1 1360568 T 20020019 A3 0105753 A1 1194401 A1 0202371 A2 2003505365 T 20020131 A 192002 A3	18-01-2001 05-02-2001 19-03-2002 25-01-2001 24-07-2002 17-04-2002 25-01-2001 10-04-2002 28-10-2002 12-02-2003 12-03-2002 04-06-2002
WO 9911658	A 11-03-1999	AU AU EP EP WO WO US US US	8875398 A 8875798 A 1012166 A1 1009758 A1 9911657 A1 9911658 A1 6262069 B1 2002040144 A1 2002055522 A1	22-03-1999 22-03-1999 28-06-2000 21-06-2000 11-03-1999 11-03-1999 17-07-2001 04-04-2002 09-05-2002
WO 0076971	A 21-12-2000	AU AU AU CA CA EP EP WO WO WO JP US	5413600 A 5414000 A 5546000 A 2375920 A1 2383008 A1 1192135 A2 1192132 A2 0077027 A2 0076970 A2 0076971 A2 2003502314 T 2002055522 A1	02-01-2001 02-01-2001 02-01-2001 21-12-2000 21-12-2000 03-04-2002 03-04-2002 21-12-2000 21-12-2000 21-12-2000 21-01-2003 09-05-2002

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Internationales Aktenzeichen PCT/EP 03/01248

A. KLASSEFIZIERUNG DES ANMELDUNGSGEGENSTANDES IPK 7 C07D401/12 C07D403/12 C07D217/12 A61K31/47 A61P35/04
--

Nach der Internationalen Patentklassifikation (IPK) oder nach der nationalen Klassifikation und der IPK

B. RECHERCHIERTE GEBIETE

Recherchierte Mindestprästoff (Klassifikationssystem und Klassifikationsymbole)
IPK 7 C07D

Recherchierte aber nicht zum Mindestprästoff gehörende Veröffentlichungen, soweit diese unter die recherchierten Gebiete fallen

Während der internationalen Recherche konsultierte elektronische Datenbank (Name der Datenbank und evtl. verwendete Suchbegriffe)

EPO-Internal, CHEM ABS Data, BEILSTEIN Data

C. ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN

Kategorie*	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
A	WO 01 05753 A (HOLZEMANN GUENTER ;MERCK PATENT GMBH (DE); GOODMAN SIMON (DE); KES) 25. Januar 2001 (2001-01-25) Ansprüche; Beispiele ---	1-19
A	WO 99 11658 A (JONES STUART DONALD ;MORGAN PHILLIP JOHN (GB); RIMMER ANDREW DAVID) 11. März 1999 (1999-03-11) Ansprüche; Beispiele 162,164 ---	1-19
A	WO 00 76971 A (JONES STUART DONALD ;LYONS AMANDA JANE (GB); MORGAN PHILLIP JOHN ()) 21. Dezember 2000 (2000-12-21) Ansprüche; Beispiel 149 ----	1-19

Weitere Veröffentlichungen sind der Fortsetzung von Feld C zu entnehmen

Siehe Anhang Patentfamilie

* Besondere Kategorien von angegebenen Veröffentlichungen :

A Veröffentlichung, die den allgemeinen Stand der Technik definiert, aber nicht als besonders bedeutsam anzusehen ist

E älteres Dokument, das jedoch erst am oder nach dem internationalen Anmeldedatum veröffentlicht worden ist

L Veröffentlichung, die geeignet ist, einen Prioritätsanspruch zweifelhaft erscheinen zu lassen, oder durch die das Veröffentlichungsdatum einer anderen im Recherchenbericht genannten Veröffentlichung belegt werden soll oder die aus einem anderen besonderen Grund angegeben ist (wie ausgetragen)

O Veröffentlichung, die sich auf eine mündliche Offenbarung, eine Benutzung, eine Ausstellung oder andere Maßnahmen bezieht

P Veröffentlichung, die vor dem internationalen Anmeldedatum, aber nach dem beanspruchten Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist

T Spätere Veröffentlichung, die nach dem internationalen Anmeldedatum oder dem Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist und mit der Anmeldung nicht kollidiert, sondern nur zum Verständnis des der Erfindung zugrundliegenden Prinzips oder der ihr zugrundliegenden Theorie angegeben ist

X Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann allein aufgrund dieser Veröffentlichung nicht als neu oder auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden

Y Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann nicht als auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden, wenn die Veröffentlichung mit einer oder mehreren anderen Veröffentlichungen dieser Kategorie in Verbindung gebracht wird und diese Verbindung für einen Fachmann naheliegend ist

& Veröffentlichung, die Mitglied derselben Patentfamilie ist

Datum des Abschlusses der internationalen Recherche

Absendedatum des internationalen Recherchenberichts

2. Juni 2003

10/06/2003

Name und Postanschrift der Internationalen Recherchenbehörde

Europäisches Patentamt, P.B. 5818 Patentlaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl.
Fax: (+31-70) 340-3016

Bevollmächtigter Bediensteter

Menegaki, F

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Feld I Bemerkungen zu den Ansprüchen, die sich als nicht recherchierbar erwiesen haben (Fortsetzung von Punkt 2 auf Blatt 1)

Gemäß Artikel 17(2)a) wurde aus folgenden Gründen für bestimmte Ansprüche kein Recherchenbericht erstellt:

1. Ansprüche Nr.
weil sie sich auf Gegenstände beziehen, zu deren Recherche die Behörde nicht verpflichtet ist, nämlich
Obwohl die Ansprüche 18, 19 sich auf ein Verfahren zur Behandlung des menschlichen/tierischen Körpers beziehen, wurde die Recherche durchgeführt und gründete sich auf die angeführten Wirkungen der Verbindung/Zusammensetzung.
2. Ansprüche Nr.
weil sie sich auf Teile der internationalen Anmeldung beziehen, die den vorgeschriebenen Anforderungen so wenig entsprechen, daß eine sinnvolle internationale Recherche nicht durchgeführt werden kann, nämlich
3. Ansprüche Nr.
weil es sich dabei um abhängige Ansprüche handelt, die nicht entsprechend Satz 2 und 3 der Regel 6.4 a) abgefaßt sind.

Feld II Bemerkungen bei mangelnder Einheitlichkeit der Erfindung (Fortsetzung von Punkt 3 auf Blatt 1)

Die internationale Recherchenbehörde hat festgestellt, daß diese internationale Anmeldung mehrere Erfindungen enthält:

1. Da der Anmelder alle erforderlichen zusätzlichen Recherchengebühren rechtzeitig entrichtet hat, erstreckt sich dieser internationale Recherchenbericht auf alle recherchierbaren Ansprüche.
2. Da für alle recherchierbaren Ansprüche die Recherche ohne einen Arbeitsaufwand durchgeführt werden konnte, der eine zusätzliche Recherchengebühr gerechtfertigt hätte, hat die Behörde nicht zur Zahlung einer solchen Gebühr aufgefordert.
3. Da der Anmelder nur einige der erforderlichen zusätzlichen Recherchengebühren rechtzeitig entrichtet hat, erstreckt sich dieser internationale Recherchenbericht nur auf die Ansprüche, für die Gebühren entrichtet worden sind, nämlich auf die Ansprüche Nr.
4. Der Anmelder hat die erforderlichen zusätzlichen Recherchengebühren nicht rechtzeitig entrichtet. Der internationale Recherchenbericht beschränkt sich daher auf die in den Ansprüchen zuerst erwähnte Erfindung; diese ist in folgenden Ansprüchen erfaßt:

Bemerkungen hinsichtlich eines Widerspruchs

- Die zusätzlichen Gebühren wurden vom Anmelder unter Widerspruch gezahlt.
 Die Zahlung zusätzlicher Recherchengebühren erfolgte ohne Widerspruch.

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Angaben zu Veröffentlichungen, die zur selben Patentfamilie gehören

Internationales Aktenzeichen
PCT/EP 03/01248

Im Recherchenbericht angeführtes Patentdokument	Datum der Veröffentlichung	Mitglied(er) der Patentfamilie	Datum der Veröffentlichung
WO 0105753	A 25-01-2001	DE 19932796 A1 AU 6155100 A BR 0012391 A CA 2379041 A1 CN 1360568 T CZ 20020019 A3 WO 0105753 A1 EP 1194401 A1 HU 0202371 A2 JP 2003505365 T NO 20020131 A SK 192002 A3	18-01-2001 05-02-2001 19-03-2002 25-01-2001 24-07-2002 17-04-2002 25-01-2001 10-04-2002 28-10-2002 12-02-2003 12-03-2002 04-06-2002
WO 9911658	A 11-03-1999	AU 8875398 A AU 8875798 A EP 1012166 A1 EP 1009758 A1 WO 9911657 A1 WO 9911658 A1 US 6262069 B1 US 2002040144 A1 US 2002055522 A1	22-03-1999 22-03-1999 28-06-2000 21-06-2000 11-03-1999 11-03-1999 17-07-2001 04-04-2002 09-05-2002
WO 0076971	A 21-12-2000	AU 5413600 A AU 5414000 A AU 5546000 A CA 2375920 A1 CA 2383008 A1 EP 1192135 A2 EP 1192132 A2 WO 0077027 A2 WO 0076970 A2 WO 0076971 A2 JP 2003502314 T US 2002055522 A1	02-01-2001 02-01-2001 02-01-2001 21-12-2000 21-12-2000 03-04-2002 03-04-2002 21-12-2000 21-12-2000 21-12-2000 21-01-2003 09-05-2002